



**Carla Marisa Brito de
Carvalho**

**SÍNTESE E REATIVIDADE DE BENZO- E
PIRROLOPORFIRINAS**



**Carla Marisa Brito de
Carvalho**

SÍNTESE E REATIVIDADE DE BENZO- E PIRROLOPORFIRINAS

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química, realizada sob a orientação científica do Doutor Augusto Costa Tomé e da Doutora Maria da Graça de Pinho Morgado Silva Neves, ambos Professores Associados com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Apoio financeiro do POCTI no âmbito
do III Quadro Comunitário de Apoio.

Apoio financeiro da FCT e do FSE no
âmbito do III Quadro Comunitário de
Apoio.

Ciência. **Inovação**
2010



UNIÃO EUROPEIA
Fundo Social Europeu

o júri
presidente

José Rodrigues Ferreira da Rocha

Professor Catedrático do Departamento de Eletrónica da Universidade de Aveiro

Artur Manuel Soares da Silva

Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Augusto Costa Tomé

Professor Associado com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Maria da Graça de Pinho Morgado Silva Neves

Professora Associada com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Maria Manuela Marques Raposo

Professora Associada do Departamento de Química da Universidade do Minho

Paulo Jorge dos Santos Coelho

Professor Associado do Departamento de Química da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Carlos Manuel Magalhães Afonso

Professor Auxiliar com Agregação da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

A ti, meu Amor...

agradecimentos

Apesar de esta dissertação ser assinada por um único nome e de este ser um trabalho muitas vezes solitário, foram muitas as pessoas que colaboraram para que ele fosse terminado com sucesso. Aproveito este espaço para deixar o meu mais sincero agradecimento a todos.

À minha orientadora, Professora Graça Neves, gostaria de deixar o meu mais profundo agradecimento por todo o conhecimento que me foi transmitindo ao longo de tantos anos, palavras de incentivo, mas principalmente a confiança de que os limites podem ser sempre superados. Ao meu orientador, Professor Augusto Tomé agradeço todo o cuidado com que sempre analisou as questões que foram surgindo ao longo deste trabalho, principalmente o contributo que deu na leitura desta tese, tornando-a mais rica e mais rigorosa.

Ao Professor Artur Silva agradeço todo o acompanhamento do trabalho, os ensinamentos que sempre me transmitiu de uma forma paciente e simpática, a ajuda preciosa nas caracterizações por RMN, mas principalmente a amizade com que sempre pautou as nossas discussões.

Ao Professor José Cavaleiro desejo apenas deixar-lhe um sentido “Muito obrigada” por em momentos chave ter-me lembrado em poucas palavras que os sonhos são para se seguir.

À Professora Angeles Juarranz e ao Doutor Francisco Sanz da UAM de Madrid, desejo expressar o merecido reconhecimento pela calorosa receção que me proporcionaram em Madrid, e principalmente o apoio, sugestões e interesse dedicado aos estudos de avaliação biológica que constam deste trabalho.

À Doutora Amparo Faustino agradeço o contacto com o grupo anterior e a amizade dedicada ao longo destes anos.

À Dr^a Fátima Condesso agracio os sorrisos, a boa disposição e bom ambiente que sempre patrocinou onde quer que estivesse. Obrigada pela nossa TPP.

Ao Dr. Hilário Tavares e à Dr^a Cristina Barros, pela aquisição dos espectros de RMN e de Espectrometria de Massa.

Ao Doutor Filipe Paz, pela colaboração prestada com a Difractometria de Raios-X.

Ao Doutor Sérgio Santos, pela colaboração prestada com os estudos de dinâmica molecular.

Aos meus companheiros de almoço e de outras “andanças” tanto ou mais divertidas, Joanocas, Sandrina, Hélio e Andreia A. e Companhias Limitada agradeço principalmente por terem ajudado a manter a minha (in)sanidade mental de uma forma que, com certeza, não imaginam.

Aos meus amigos de há quinhentos anos, que sempre me acompanharam perto ou longe, de diferentes formas: Tiago, Cristina, Patrícia, Pedro, Miguel, Tina e Nelson. Em especial à Carina por tudo o que ela sabe.

À Di que continua sempre a ocupar um lugar especial em mim.

À Tita por me ter acompanhado a crescer antes de ser adulta.

agradecimentos

Por último gostaria de agradecer aos seres mais especiais com quem já me cruzei até hoje e que têm feito tudo valer a pena.

Às minhas manas do coração Eli e Ana. Tenho poucas palavras para vocês, porque infelizmente elas são escassas para descrever tudo o que partilhei convosco. À minha Eli agradeço a ternura, o afeto, a dedicação, os nossos momentos, a ajuda, as lágrimas, os sorrisos e tudo o que nunca vou conseguir agradecer... À minha Ana agradeço toda uma vida de partilha, de entendimento, de experiências, de apoio, de gargalhadas, de cumplicidade e tudo o que um simples olhar entre nós basta para explicar.

À minha família: aos meus pais, aos meus avós e aos meus sogros.

Mamã obrigada por sempre teres uma palavra de incentivo, um miminho e uma confiança inabalável em mim.

Papá obrigada por me teres ensinado o prazer dos livros, a magia dos dinossauros e das ciências, por sempre confiares que ia chegar onde eu queria e nunca teres duvidado.

Vovó e Vovô obrigada por me terem ensinado os verbos e a tabuada, por terem tratado de mim.

Paulinha obrigada pelo lar, quando ele foi preciso.

À minha Becas, companheira de todos os momentos, incluindo os infindáveis meses de escrita desta tese, por encerrares em ti todo o afeto do Universo.

Por fim fica o meu agradecimento mais difícil.

Para o meu Amor precisaria de palavras infinitas que não cabem neste espaço singelo. Pelo ombro, pela mão, por todo o teu coração, pelas gargalhadas, pela eterna cumplicidade, pelo abraço de gigante, pelo porto seguro de abrigo, pelas palavras sem fim, pela confiança cega que em mim depositas, por seres um exemplo enquanto ser humano, por me teres salvo, por te dedicares por inteiro a entenderes-me e por seres o que de mais especial consegui construir. Obrigada Rui por te teres tornado a minha casa em qualquer parte do Mundo e por te teres mantido no nosso barco com a esperança de que sempre tudo vai correr bem...como sempre correu...

palavras-chave

Porfirina, Benzoporfirina, Pirroloporfirina, Ftalimida, Fotossensibilizador, PDT, UV-vis.

resumo

O trabalho descrito nesta dissertação envolve estudos de funcionalização de uma pirrolo[3,4-*b*]porfirina através de reações do tipo cicloadição [4+2]. A metodologia de cicloadição usada permitiu sintetizar duas grandes famílias de compostos: benzoporfirinas e 1,3-dioxopirroloporfirinas.

Este documento é composto por três partes distintas.

Na primeira parte são tecidas considerações gerais sobre síntese, propriedades e aplicações de porfirinas.

Na segunda parte é apresentado o trabalho desenvolvido no âmbito de síntese e reatividade de benzoporfirinas. Numa primeira fase é feita uma revisão bibliográfica sobre síntese de benzoporfirinas e ftalimidas, uma vez que o trabalho prático descrito apresenta compostos contendo estas duas unidades estruturais. Numa segunda fase é descrito o trabalho desenvolvido para a obtenção de uma benzoporfirina derivatizada com uma unidade de ácido ftálico fundida em posições β -pirrólicas, partindo da reação de Diels-Alder entre uma *N*-metilpirrolo[3,4-*b*]porfirina e o acetilenodicarboxilato de dimetilo e posterior hidrólise básica do diéster obtido. Seguem-se os estudos que visaram a obtenção de um anidrido porfirínico a partir do ácido ftálico anterior. Esta plataforma sintética foi usada para diversas transformações com diferentes aminas. Destas reações resultaram diferentes unidades benzoporfirínicas, que serão descritas em pormenor. Face às distintas cores apresentadas pelos diferentes compostos sintetizados, foi ainda feita uma análise pormenorizada dos espectros de UV-vis de alguns dos compostos obtidos.

Na terceira parte, é apresentado o trabalho realizado no âmbito da síntese de uma 1,3-dioxopirroloporfirina, partindo da reação de Diels-Alder entre a *N*-metilpirrolo[3,4-*b*]porfirina e oxigénio singlete ($^1\text{O}_2$). Primeiramente é feita uma revisão bibliográfica sobre o papel do $^1\text{O}_2$ em síntese orgânica e sobre reações de oxidação de isoindóis, compostos possuindo uma analogia estrutural com pirroloporfirinas. Segue-se a descrição da síntese de uma *N*-metil1,3-dioxopirroloporfirina, em que se começa por apresentar a descrição sistemática de todas as experiências levadas a cabo no sentido de otimizar o rendimento do composto em questão, tirando partido da reação com $^1\text{O}_2$. Seguidamente expõem-se as diferentes abordagens conduzidas para proceder à funcionalização da 1,3-dioxopirroloporfirina obtida. São apresentadas reações de hidrólise e reações com diferentes aminas. As reações com aminas conduziram à formação de porfirina-2,3-dicarboxamidas e posteriormente às 1,3-dioxopirroloporfirinas correspondentes. Também neste caso foi feita uma análise pormenorizada dos espectros de UV-vis da maioria dos derivados obtidos. De forma a avaliar a potencialidade de alguns dos macrociclos sintetizados em terapia fotodinâmica (PDT), são apresentados os ensaios biológicos de PDT *in vitro* conduzidos com alguns dos macrociclos sintetizados. Estes ensaios envolveram a avaliação da viabilidade celular após tratamento fotodinâmico, estudos de localização celular e morfologia.

keywords

Porphyrin, Benzoporphyrin, Pyrroloporphyrin, Phthalimide, PDT, UV-vis

abstract

The work described in this thesis involves studies on functionalization of a pyrrolo[3,4-b]porphyrin through [4+2] cycloaddition reactions. The used methodology allowed the synthesis of two major families of compounds: benzoporphyrins and 1,3-dioxopyrroloporphyrins. This document consists of three distinct parts.

In the first part some general considerations about the synthesis, properties and applications of porphyrins are made. The second part presents the work developed in the synthesis and functionalization of benzoporphyrins. It starts with a literature review on the synthesis of benzoporphyrins and phthalimides. Then the work carried out to get the benzoporphyrin template and subsequent functionalization of it until the attainment of a benzoporphyrin derivative functionalized with an anhydride function is described. This model compound was used in several reactions with different amines. The different colors displayed by the synthesized compounds, conducted to a detailed analysis of their UV-vis spectra. The third part presents the work performed for the synthesis of a 1,3-dioxopyrroloporphyrin. Initially a literature review on the role of singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) in organic synthesis and oxidation reactions of isoindole derivatives, a compound having structural analogy with pyrroloporphyrins, is presented. Then a description of the synthesis of the 1,3-dioxopyrroloporphyrin, which starts by presenting a systematic description of all experiments carried out in order to optimize the yield of the mentioned compound. Then, different approaches led to the functionalization of the 1,3-dioxopyrroloporphyrin. Hydrolysis reactions are presented and also reactions with different amines leading to the formation of porphyrin-2,3-dicarboxamides and thereafter to the corresponding 1,3-dioxopyrroloporphyrins. A detailed analysis of the UV-vis spectra of all obtained derivatives was made. In order to evaluate the potential of some of the synthesized macrocycles in photodynamic therapy (PDT) several *in vitro* assays were carried out. These tests involved the assessment of cell viability after photodynamic treatment, studies of cellular localization and morphology.

Índice

Índice

Agradecimentos i
Resumo iii
Abstract iv
Índice v
Abreviaturas x

Capítulo I – Generalidades

1. Porphirinas –Generalidades 3
<i>Numeração de macrociclos porfirínicos</i> 5
<i>Propriedades físico-químicas e reatividade</i> 6
<i>espectros de UV-vis</i> 12
<i>Ressonância magnética nuclear</i> 14
<i>Síntese de macrociclos porfirínicos – História e métodos de síntese da</i> <i>5,10,15,20-tetrafenilporfirina</i> 14
<i>Aplicações de macrociclos porfirínicos</i> 17
1.1. Breve apresentação do trabalho desenvolvido 19
1.2. Referências 20

Capítulo II – Benzoporphirinas – Síntese e Reatividade

2. Benzoporphirinas – Síntese e Reatividade 27
2.1. Preâmbulo 27
2.2. Benzoporphirinas – Conceitos, História e Processos de Síntese 29
<i>A origem de benzoporphirinas</i> 29
<i>Síntese de benzoporphirinas – mono-, di- e tetrabenzoporphirinas</i> 32
<i>Pirroloporphirinas como precursoras de monobenzoporphirinas</i> 46
2.3. Ftalimidas e Análogos- Conceitos, Síntese e Aplicações 52
2.4. Síntese de Novas Benzoporphirinas 56
2.4.1. Reação do anidrido ftálico 15 com arilaminas 67
2.4.1.1. Arilaminas simples 67

Índice

<i>Reação com a 4-aminobenzilamina.</i>	69
<i>Reação com a 4-(aminometil)piridina</i>	72
<i>Reação com a benzeno-1,4-diamina</i>	73
<i>Reação com a benzeno-1,3-diamina</i>	80
<i>Reação com a benzeno-1,2-diamina</i>	81
<i>Reação com o naftaleno-1,8-diamina</i>	85
<i>Reação com o 4-aminofaltonitrilo</i>	89
2.4.1.2. Arilaminas macrocíclicas	92
<i>Reação com TPP-meso-NH₂</i>	94
<i>Reação com TPP-β-NH₂</i>	95
2.4.2. Síntese de uma díade porfirina-ftalocianina	96
2.4.3. Análise dos espectros de UV-vis dos derivados sintetizados	102
<i>Compostos 12 e 12a</i>	102
<i>Ftalimidas monoméricas</i>	103
<i>Compostos 23, 26, 23a e 26a</i>	107
<i>Dímeros 20 e 20a</i>	108
<i>Díade 28 e 28a</i>	110
<i>Díade 33</i>	111
2.4.4. Conclusões	114
2.4.5. Procedimentos Experimentais	116
<i>Síntese do composto 12.</i>	116
<i>Síntese do composto 12a</i>	118
<i>Síntese da benzoporfirina 2</i>	120
<i>Síntese da benzoporfirina 2a</i>	121
<i>Síntese do ácido ftálico 14</i>	123
<i>Síntese do ácido ftálico 14a</i>	125
<i>Síntese do anidrido ftálico 15</i>	126
<i>Síntese da ftalimida 16</i>	128
<i>Síntese da ftalimida 16a</i>	130
<i>Síntese da ftalimida 17</i>	132
<i>Síntese da ftalimida 17a</i>	134
<i>Síntese da ftalimida 18</i>	135

Índice

<i>Síntese da ftalimida 18a</i>	138
<i>Síntese do dímero 19</i>	139
<i>Síntese do dímero 20</i>	142
<i>Síntese do dímero 20a</i>	144
<i>Síntese do composto 23.</i>	147
<i>Síntese do composto 23a</i>	149
<i>Síntese do composto 26.</i>	151
<i>Síntese do composto 26a</i>	154
<i>Síntese do ftalonitrilo 27</i>	157
<i>Síntese do ftalonitrilo 27a</i>	159
<i>Síntese da TPP-meso-NH₂</i>	161
<i>Síntese da TPP-β -NH₂.</i>	162
<i>Síntese da díade 28</i>	163
<i>Síntese da díade 28a</i>	165
<i>Síntese da ftalimida 35</i>	167
<i>Síntese da ftalimida 36a</i>	168
<i>Síntese da díade 33</i>	169
2.5. Referências	171

Capítulo III – 1,3-Dioxopirroloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

3. 1,3-Dioxopirroloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica	179
3.1. Síntese e Reatividade de 1,3-Dioxopirroloporfirinas	179
3.1.1. Preâmbulo	179
3.1.2. Oxigénio singlete em síntese orgânica	181
<i>A molécula de oxigénio – Noções essenciais</i>	181
<i>Geração de oxigénio singlete.</i>	182
<i>Utilização de oxigénio singlete em síntese orgânica</i>	185
<i>Reações do tipo eno – Formação de hidroperóxidos alílicos</i>	187
<i>Reações do tipo cicloadição [4+2] - Formação de endoperóxidos</i>	188
<i>Cicloadição [2+2] - Formação de dioxetanos</i>	191
3.1.3. Reações de ¹ O ₂ com compostos heterocíclicos	192

Índice

<i>Pirróis</i>	193
<i>Indóis</i>	194
<i>Porfirinas</i>	195
3.1.4. Oxidação de isoindóis	198
3.1.5. Síntese e Reatividade de Novas 1,3-Dioxopirroloporfirinas (1,3-DPP)		203
<i>Estudos de maximização do rendimento da 1,3-DPP 37</i>	208
<i>Hidrólise da 1,3-DPP 37</i>	214
<i>Reação da 1,3-DPP 37 com aminas</i>	220
<i>Análise dos espectros de UV-vis dos derivados sintetizados</i>	232
3.1.5.1. Procedimentos Experimentais	237
<i>Reagentes, solventes e equipamento</i>	237
<i>Síntese da 1,3-DPP 37</i>	238
<i>Síntese da 1,3-DPP 37a.</i>	240
<i>Síntese do composto 38.</i>	242
<i>Síntese do complexo de níquel do ácido 5,10,15,20-tetrafenil3-(metilcarbamoil)porfirina-2-carboxílico 39</i>	245
<i>Síntese do ácido 5,10,15,20-tetrafenil3-(metilcarbamoil)porfirina-2-carboxílico 39a.</i>	248
<i>Síntese do complexo de níquel de 5,10,15,20-tetrafenil2-(metilcarbamoil)porfirina 40</i>	249
<i>Síntese da 5,10,15,20-tetrafenil2-(metilcarbamoil)porfirina 40a</i>	252
<i>Síntese das 2,3-dicarboxamidoporfirinas 41 e 42</i>	253
<i>Síntese das 2,3-dicarboxamidoporfirinas 41a e 42a</i>	259
<i>Síntese das 1,3-dioxopirroloporfirinas 43 e 44</i>	262
3.2. 1,3-Dioxopirroloporfirinas e 2,3-Dicarboxamidoporfirinas – Atividade Biológica em PDT	265
3.2.1. Preâmbulo	265
3.2.2. A Célula Eucariótica e PDT	266
<i>A Célula Eucariótica – Princípios básicos</i>	269
<i>Linhas Celulares</i>	268
<i>Linha Celular HaCaT</i>	268
<i>Linha Celular HeLa</i>	269

Índice

<i>PDT – Princípios e Aplicações</i>	269
3.2.2.1. PDT usando 1,3-Dioxopirroloporfirinas e Porfirina-2,3-dicarboxamidas como PS	272
<i>Geração relativa de 1O_2</i>	273
<i>Atividade fotodinâmica das porfirinas 37a, 41a e 43a</i>	276
<i>Incorporação dos PS em lipossomas</i>	276
<i>Testes de viabilidade celular</i>	277
<i>Testes de localização do PS</i>	277
<i>Testes morfológicos</i>	290
3.2.2.2. Procedimentos experimentais	292
<i>Reagentes, meios de cultura, produtos e equipamento</i>	292
<i>Geração relativa de 1O_2 – Método do DPiBF</i>	293
<i>Manutenção e inoculação de culturas celulares</i>	293
<i>Incorporação dos PS em lipossomas</i>	294
<i>Tratamentos fotodinâmicos</i>	294
<i>Testes de viabilidade celular</i>	295
<i>Testes de localização do PS</i>	295
<i>Testes morfológicos</i>	295
3.3. Conclusões	297
3.4. Referências	298

Abreviaturas

δ - desvio químico

β -H – prótons β -pirrólicos

ϵ - absorvidade molar

η - rendimento

λ - comprimento de onda

$\lambda_{\text{máx}}$ - comprimento de onda para os máximos de absorvância

Ac - acetilo

Ar – arilo

Benzo-TPP - 6,11,16,21-tetrafenilbenzo[*b*]porfirina

BOC – di-terc-butilcarbamato

BP - benzoporfirina

COSY - espectro bidimensional de correlação espectroscópica homonuclear

d – duplete

DBU -1,8-diazabicyclo-undec-7-eno

1,2-DCE - 1,2-dicloro-etano

dd - duplo duplete

DDQ - 2,3-dicloro-5,6-diclorobenzoquinona

DEAD - azodicarboxilato de di-etilo

DFiBF – 1,3-difenilisobenzofurano

DIAD – azodicarboxilato de di-isopropilo

diBP - dibenzoporfirina

diBP-adj - dibenzoporfirina contendo os anéis benzênicos em posições β -pirrólicas adjacentes

Abreviaturas

diBP-op - dibenzoporfirina contendo os anéis benzênicos em posições β -pirrólicas opostas

1,3-DPP - 1,3-dioxopirroloporfirina

DMAD – acetilenodicarboxilato de dimetilo

DMAE – dimetilamino-etanol

DMAP - 4-dimetilaminopiridina

DMEM- Dulbecco's Modified Eagle's Medium

DMF - *N,N*-dimetilformamida

DMSO – sulfóxido dimetilo

DNA - ácido desoxirribonucleico

DPPC- dipalmitoilfosfatidilcolina

EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético

EP – éter de petróleo

equiv. - equivalente

ESI - ionização por eletrovaporização

Et- etilo

HaCaT – linha celular humana de queratinócitos desenvolvida em meio com baixa concentração de cálcio e a elevada temperatura (**H**uman **A**dult **C**alcium **T**emperature)

HeLa – linha celular humana de um carcinoma cervical isoladas de **H**enriquetta **L**acks

Ph-H – prótons do(s) grupo(s) fenilo das posições *meso* do macrociclo porfirínico

HMBC - correlação espectroscópica heteronuclear a longa distância

HMDS – hexametildi-silazano

HRMS - espectrometria de massa de alta resolução

HSQC - correlação espectroscópica heteronuclear

ISC - cruzamento intersistemas

Abreviaturas

IUPAC - União Internacional de Química Pura e Aplicada

J - constante de acoplamento

m – multiplete

M- ião metálico

(M)⁺⁺ - ião molecular

MALDI - ionização por desorção por laser assistida por matriz

[M+H]⁺ - ião molecular protonado

monoBP - monobenzoporfirina

MTT- 4,5-dimetil3-tiazolil2,5-difeniltetrazolio

MS - espectrometria de massa

m/z - razão massa/carga

NBS - *N*-bromossuccinimida

Ni-Benzo-TPP - 6,11,16,21-tetrafenilbenzo[*b*]porfirinatônico(II)

Ni-TPP – 5,10,15,20-tetrafenilporfirinatônico(II)

nm – nanômetros

¹O₂ – oxigênio singleto

AO – orbital atômica

OL - orbitais ligantes

OM - orbitais moleculares

ONL - orbitais não ligantes

PBS - tampão fosfato salino

PDT - terapia fotodinâmica

Ph – fenilo

ppm - partes por milhão

Abreviaturas

Py - piridina

R_f - fator de retardamento

RMN - ressonância magnética nuclear

RMN de ¹³C - ressonância magnética nuclear de carbono 13

RMN de ¹H - ressonância magnética nuclear de próton

s – singleto

SFB – soro fetal bovino

t – tripleto

1,2,4-TCB – 1,2,4-triclorobenzeno

TEA - trietilamina

tetraBP - tetrabenzoporfirina

TFA - ácido trifluoroacético

THF - tetra-hidrofurano

TLC - cromatografia de camada fina

TMS – tetrametilsilano

TPP - 5,10,15,20-tetrafenilporfirina

TPP-β-NH₂ - 2-amino5,10,15,20-tetrafenilporfirina

TPP-meso-NH₂ - 5-(4-aminofenil)-10,15,20-trifenilporfirina

TPP-PF - 5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina

UV-vis - espectrofotometria no ultravioleta-visível

Capítulo I

Generalidades

1. Porfirinas - Generalidades

O termo porfirina teve a sua génese na palavra *porphura*, a qual era usada na antiga Grécia para designar a cor púrpura. Este facto realça a intrínseca relação entre este tipo de compostos e a cor, propriedade que os torna únicos comparativamente a outras moléculas.¹

As porfirinas apresentam um macrociclo base, composto por quatro anéis de tipo pirrol unidos entre si por quatro pontes metínicas (Fig. 1.1.), sendo a sua existência fundamental à vida.²

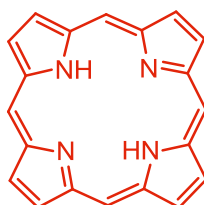


Figura 1.1. Estrutura de um núcleo porfirínico.

É notável como pequenas modificações no macrociclo tetrapirrólico básico originam nos organismos vivos funções tão diversas como a respiração e a fotossíntese, sendo a sua capacidade para coordenar metais, responsável por esses eventos bioquímicos tão distintos.¹

No caso da respiração, o núcleo porfirínico envolvido designa-se por grupo heme e é formado pelo complexo de ferro(II) da protoporfirina IX (Fig.1.2.a). O heme tem a capacidade de ligar reversivelmente o oxigénio molecular, propriedade responsável por tornar exequível o seu transporte por todo o corpo, através da hemoglobina, ou armazenamento nos tecidos musculares, através da mioglobina.³⁻⁵

Porfirinas – Generalidades

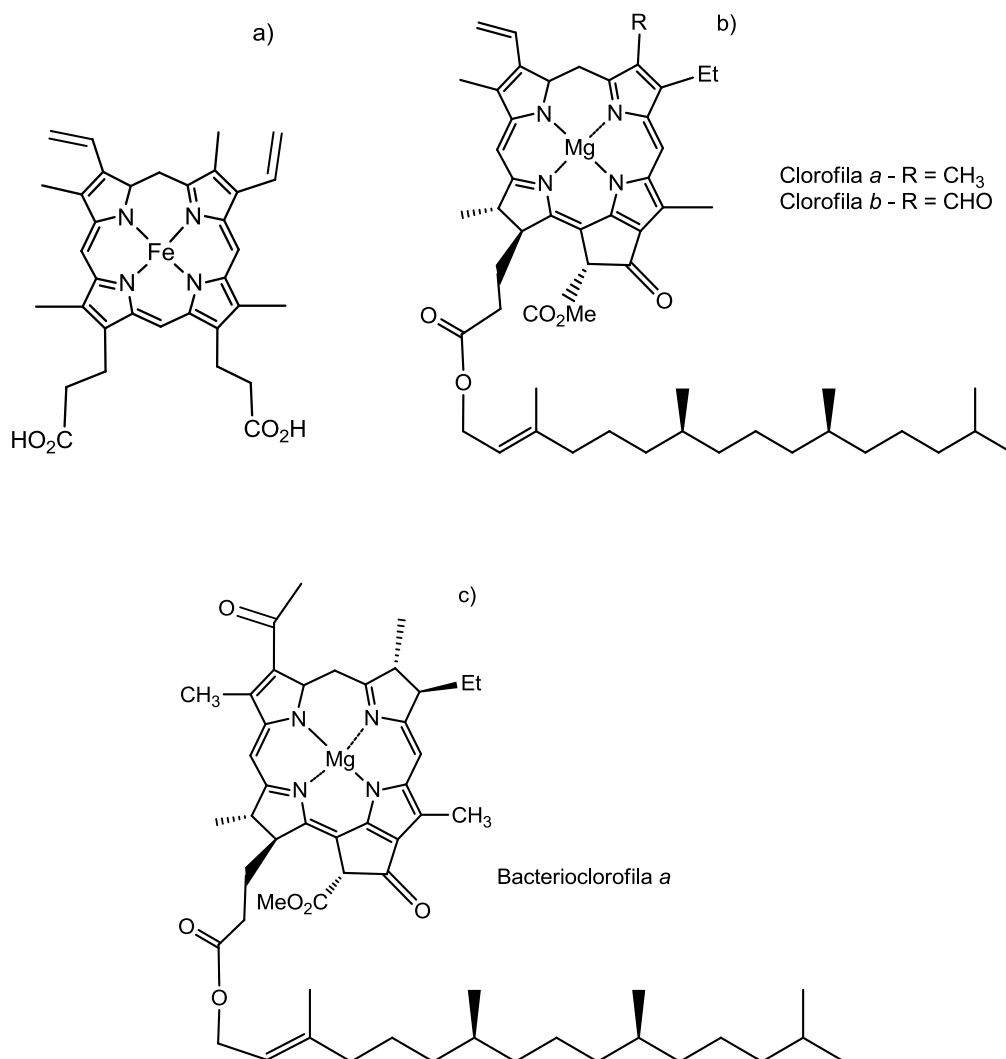


Figura 1.2. Macrocielos tetrapirrólicos naturais: a) Heme, b) Clorofila, c) Bacterioclorofila.

A elucidação estrutural do grupo heme foi de tal forma importante para a ciência que Hans Fisher, o responsável pela descoberta, foi distinguido em 1930 com o prêmio Nobel da Química.⁶

Na fotossíntese os macrocielos envolvidos são as clorofilas (Fig. 1.2.b), que apresentam uma unidade pirrólica reduzida (clorina) e estão coordenadas com o íon magnésio. Estas estruturas são as responsáveis pela absorção da luz utilizando a energia nela contida para a conversão de dióxido de carbono e água em hidratos de carbono.³⁻⁵

Em bactérias fotossintéticas podemos também encontrar bacterioclorofilas (Fig. 1.2.c). Neste caso o macrociclo tetrapirrólico apresenta duas unidades pirrólicas diagonalmente opostas reduzidas, estando também coordenado com o íon magnésio.³⁻⁵

Dada a variedade estrutural apresentada pelos diversos macrociclos porfirínicos naturais, e toda a investigação desenvolvida ao longo dos anos na síntese deste tipo de derivados, surgiu a necessidade de se estabelecer um sistema de numeração que permitisse uma nomenclatura inequívoca deste tipo de compostos.

Numeração de macrociclos porfirínicos

O primeiro sistema de numeração proposto para designar diferentes posições do núcleo porfirínico foi preconizado por Hans Fischer. Segundo o sistema deste autor os quatro anéis pirrólicos designam-se pelas letras A, B, C e D, as pontes metínicas ou posições *meso* são denominadas pelas letras gregas α , β , γ e δ e as posições externas dos anéis pirrólicos ou posições β -pirrólicas são numeradas de 1 a 8 (Fig.1.3a.).²

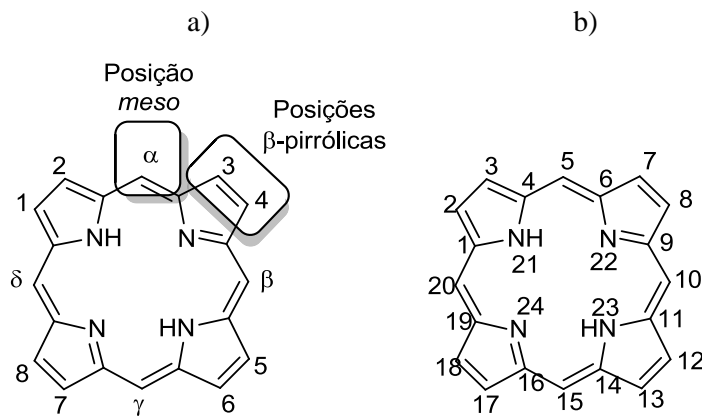


Figura 1.3. Sistemas de numeração de macrociclos porfirínicos de a) Hans Fisher e da b) IUPAC.

Mais tarde a IUPAC propôs a numeração de 1 a 24 de todos os átomos de carbono e de azoto do macrociclo (Fig. 1.3b.).²

Apesar das vantagens da utilização da nomenclatura IUPAC, em que todos os átomos estão numerados, ainda hoje é usual ver-se o macrociclo e os seus substituintes serem designados segundo a nomenclatura proposta por Fischer, nomeadamente no que concerne às posições β -pirrólicas e às posições *meso*. Em algumas situações há menção aos dois tipos de numeração em simultâneo.²

Propriedades físico-químicas e reatividade

Os macrociclos porfirínicos possuem características estruturais únicas que os destacam dos demais compostos. A seguir, serão descritas algumas dessas propriedades evidenciando a sua influência na reatividade deste tipo de macrociclos.

As porfirinas são compostos aromáticos, no entanto, apenas 18 dos 22 eletrões π constituintes do macrociclo contribuem para o seu carácter aromático. Os 4 eletrões π que não contribuem para a aromaticidade do macrociclo têm carácter de dupla ligação (Fig. 1.4.) e permitem a formação de compostos reduzidos como as clorinas, com 20 eletrões π (Fig. 1.5a.), e bacterio- (Fig. 1.5b.) e isobacterioclorinas (Fig. 1.5c.), com 18 eletrões π , sem que a aromaticidade do macrociclo seja perdida.^{7,8}

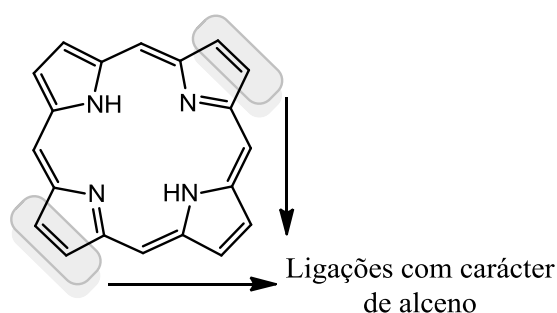


Figura 1.4. – Ligações duplas isoladas da conjugação do macrociclo tetrapirrólico com características de alceno.

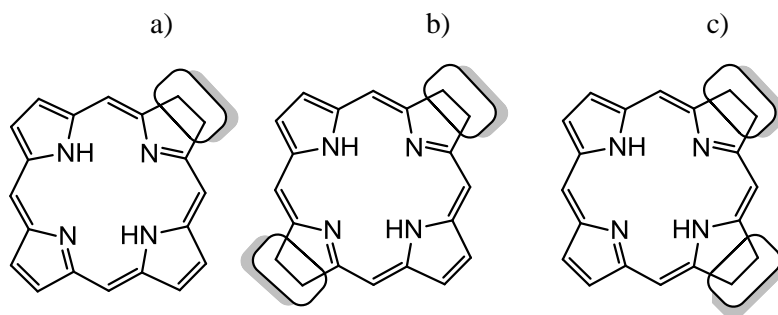
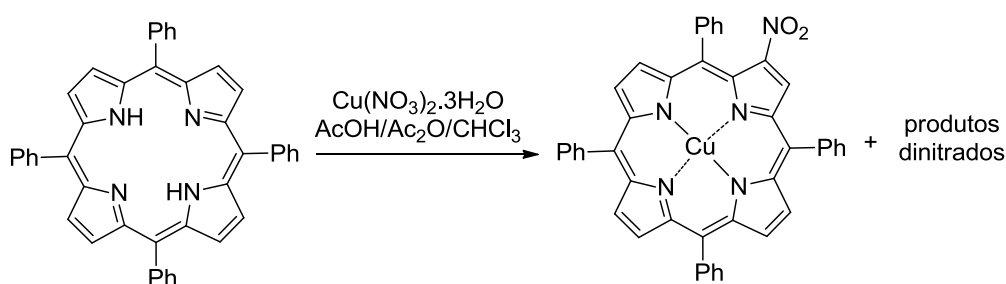


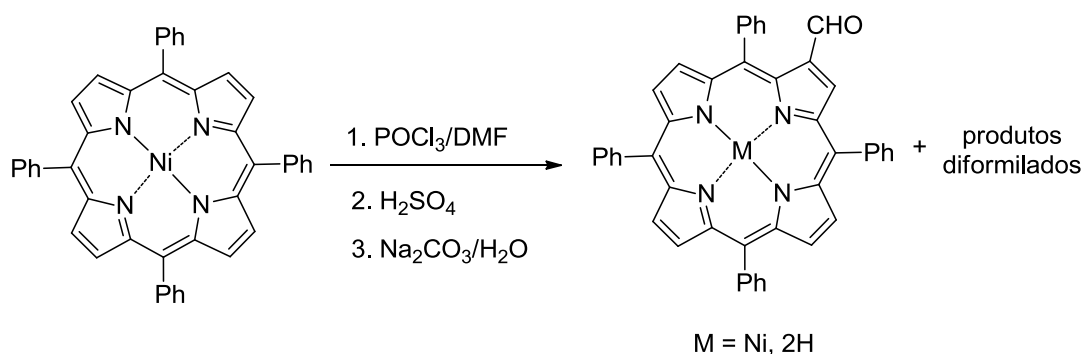
Figure 1.5. Macrociclos porfirínicos reduzidos: a) clorina, b) bacterioclorina e c) isobacterioclorina

Algumas das propriedades do macrociclo comprovam o seu caráter aromático, nomeadamente elevado calor de combustão, a topologia planar do macrociclo e a participação, por exemplo, em reações de substituição aromática electrofílica típicas de compostos aromáticos.¹

De facto, as porfirinas participam em reações de nitração⁹ (esquema 1.1.), halogenação, sulfonação, formilação¹⁰ (esquema 1.2.), acilação, alquilação e deuteração. Todavia as posições *meso* e as posições β -pirrólicas não apresentam a mesma reatividade neste tipo de transformações. A ativação de cada uma destas posições vai depender da densidade eletrónica do macrociclo que, por sua vez, pode ser controlada pela escolha do ião metálico a coordenar nos átomos de azoto centrais. Este tema será explanado em maior detalhe aquando da descrição, mais abaixo, das reações de complexação.¹



Esquema 1.1.



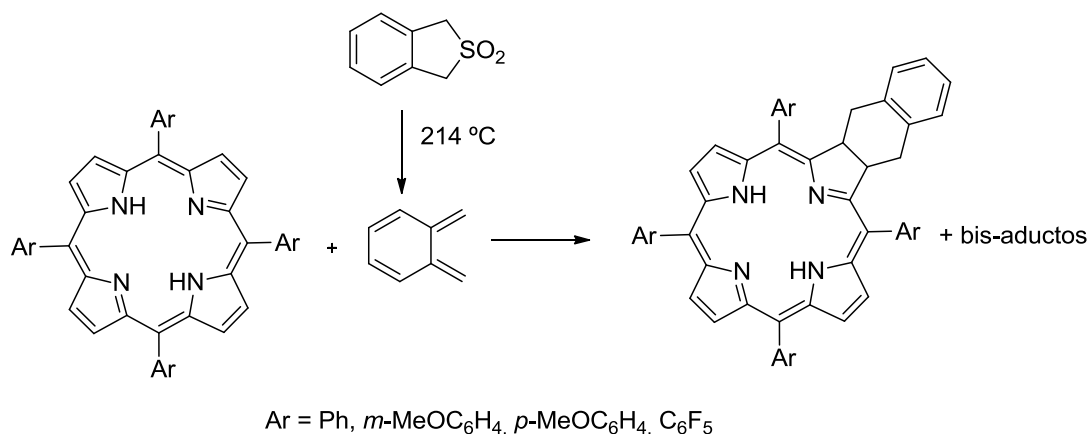
Esquema 1.2.

Para além de reações de substituição aromática electrofílica, podem também ocorrer reações de substituição aromática nucleofílica, reduções e oxidações. A reatividade do macrociclo nestas transformações depende igualmente dos fatores descritos para a substituição aromática electrofílica.¹

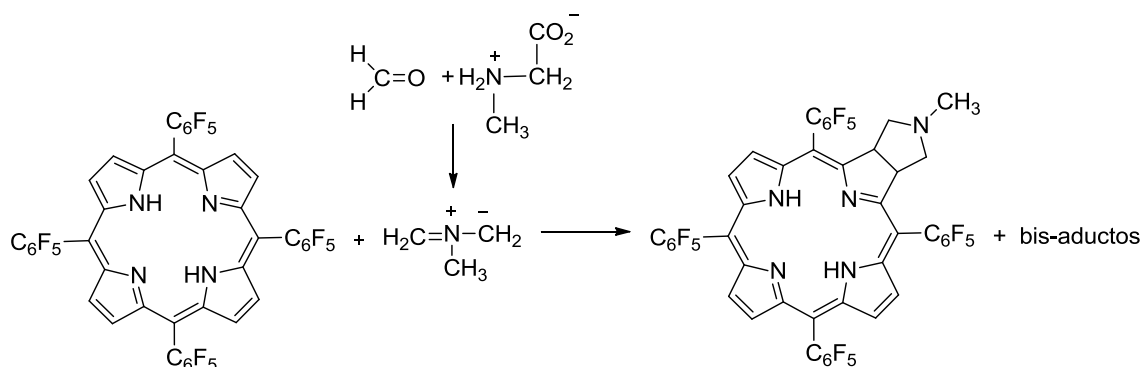
Mais ainda, reações do tipo cicloadição ganharam também particular interesse para a construção de novos macrociclos porfirínicos. O grupo do professor Cavaleiro desenvolveu ao longo das últimas décadas um trabalho exaustivo nesta temática, explorando a viabilidade da utilização deste tipo de composto em reações de Diels-Alder e em reações de cicloadição 1,3-dipolar. Na década de 90, este grupo mostrou pela primeira vez que macrociclos do tipo porfirina podem participar como dienófilos em reações de Diels-Alder (esquema 1.3.),¹¹ ou como dipolarófilos em reações de cicloadição 1,3-dipolar (esquema 1.4.).¹²

O impacto destes trabalhos ficou demonstrado pelo número de publicações que surgiram nos anos subsequentes, reportando o uso de metodologias de cicloadição na construção de inúmeros macrociclos porfirínicos com diferentes tipos de funcionalização, que culminou na escrita de um capítulo de livro no Handbook of Porphyrin Science.¹³⁻¹⁷

Porfirinas – Generalidades



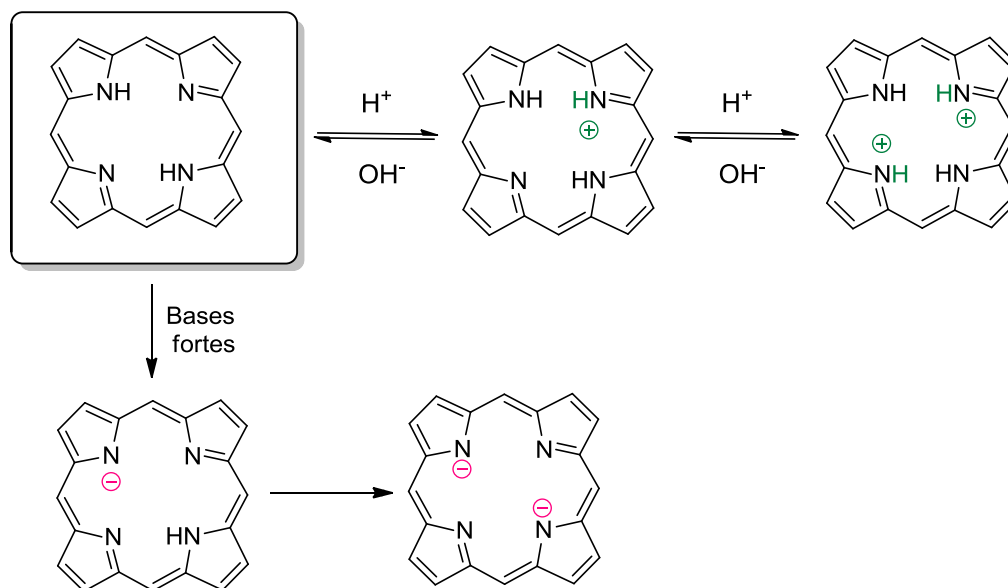
Esquema 1.3.



Esquema 1.4.

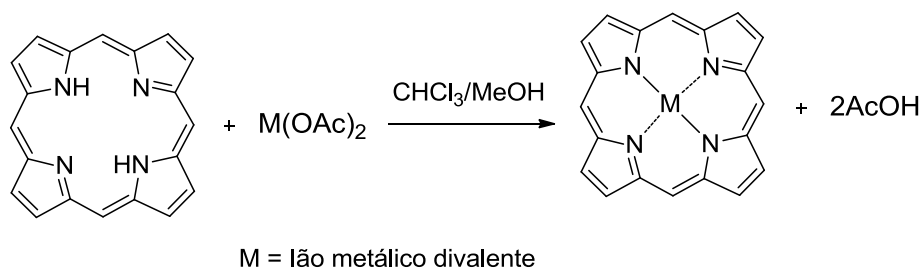
Relativamente a transformações promovidas pelos átomos de azoto do macrociclo, podem ocorrer reações ácido-base e de complexação com iões metálicos. O caráter ácido ou básico do macrociclo é fortemente influenciado pela existência ou não de grupos substituintes na periferia do macrociclo. A protonação ou desprotonação do macrociclo pode ocorrer, consoante o macrociclo se encontre em meio ácido ou em meio básico (esquema 1.5.).^{18,19}

Porfirinas – Generalidades



Esquema 1.5.

No que diz respeito às reações de complexação com íons metálicos, estas são de extrema importância na funcionalização de macrociclos porfirínicos. Vários metais podem ser inseridos na cavidade da porfirina usando sais dos respectivos íons metálicos. No esquema 1.6. apresenta-se um dos métodos utilizados para a obtenção de metaloporfirinas a partir de íons metálicos divalentes.^{20,21}



Esquema 1.6.

Há no entanto diferenças no que diz respeito ao tipo de ligação estabelecida entre o ião metálico e os azotos da cavidade do macrociclo; no caso dos catiões metálicos Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{3+} e Cr^{3+} , que têm orbitais de valência ocupadas ou semicupadas, formam-se ligações covalentes originando metaloporfirinas; metais como Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ e Li^+ formam complexos metálicos através de ligações eletrostáticas.^{20,21}

A formação de complexos metálicos, principalmente a partir de ligações covalentes, é uma das formas mais eficazes de controlar a reatividade dos macrociclos porfirínicos.^{20,21}

Quando o metal apresenta uma baixa eletronegatividade, a densidade eletrónica na periferia do macrociclo aumenta, o que se traduz num aumento de reatividade em reações de substituição aromática electrofílica. Os iões metálicos divalentes Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} e Pd^{2+} , que apresentam uma eletronegatividade crescente, induzem um decréscimo progressivo na densidade eletrónica na periferia do anel. Contudo, a escolha do metal adequado neste tipo de reações não deve ter em conta apenas os aspetos mencionados anteriormente. Em reações como a formilação ou a nitração, que exigem condições ácidas, deverá optar-se pela escolha de complexos estáveis de Ni(II) ou de Cu(II) . Desta forma, evita-se a protonação dos azotos da cavidade da porfirimina e consequente formação do dicatión não nucleofílico. Noutros casos, a utilização de complexos lábeis de Mg(II) ou Zn(II) mais eletronegativos poderá traduzir-se numa maior eficácia da reação.^{20,21}

Quando o metal apresenta uma eletronegatividade elevada, a densidade eletrónica na periferia do macrociclo diminui, o que se traduz num aumento de reatividade em reações de substituição aromática nucleofílica. Os iões metálicos como o Sn(IV) são os mais adequados para este tipo de transformações. Este tipo de reações poderá também ocorrer facilmente em derivados porfirínicos não complexados.^{20,21}

A escolha do complexo metálico em reações de oxidação ou de redução é também feita de acordo com a eletronegatividade do metal central. Em reações de oxidação é mais apropriado o uso de complexos de metais de baixa eletronegatividade, em oposição às reações de redução, onde a utilização de complexos de metais de elevada eletronegatividade é mais adequada.^{20,21}

Como foi já descrito atrás, a escolha do metal poderá ter também implicações na posição da porfirimina onde a reação ocorre. Assim, a eletronegatividade do metal é a condicionante base, na escolha do mesmo; metais de baixa electronegatividade vão ativar as

posições *meso* para a substituição aromática electrofílica, assim como metais de elevada eletronegatividade tendem a ativar as posições β -pirrólicas.¹⁸

Em suma, a modelação das posições periféricas do macrociclo porfirínico pode ser controlada de variadas formas. Esta dissertação tem como principal enfoque transformações nas posições β -pirrólicas de macrociclos *meso*-substituídos, decorrentes de reações de cicloadição de tipo [4+2]. Como tal a totalidade destes temas será abordada mais em pormenor ao longo de toda a tese.

Espectros de UV-vis

Os espectros de absorção UV-vis das porfirinas são uma das características que permite identificar a presença de um macrociclo porfirínico com bastante rapidez e certeza. Devido à elevada conjugação do sistema eletrónico π , e como consequência de transições $\pi \rightarrow \pi^*$, o macrociclo absorve intensamente luz a cerca de 400 nm (banda Soret), apresentando depois absorção 10-20 vezes menor entre 480 e 700 nm (bandas Q - 2-4 bandas consoante o tipo de macrociclo presente).²²

Variações nos substituintes periféricos do anel porfirínico provocam mudanças maiores ou menores quer na intensidade quer nos comprimentos de onda de absorção destas bandas. Ocorrem também mudanças nos espectros de absorção, nomeadamente quanto ao número e intensidade das bandas Q, se os átomos de azoto centrais estiverem protonados ou complexados com um ião metálico.^{22,23}

Normalmente as quatro bandas Q de uma porfirina não complexada são numeradas de I a IV, começando pela banda de menor energia, podendo-se distinguir quatro espectros básicos: *ethio*, *rhodo*, *phillo* e *oxorhodo* (Fig. 1.6.).^{22,23}

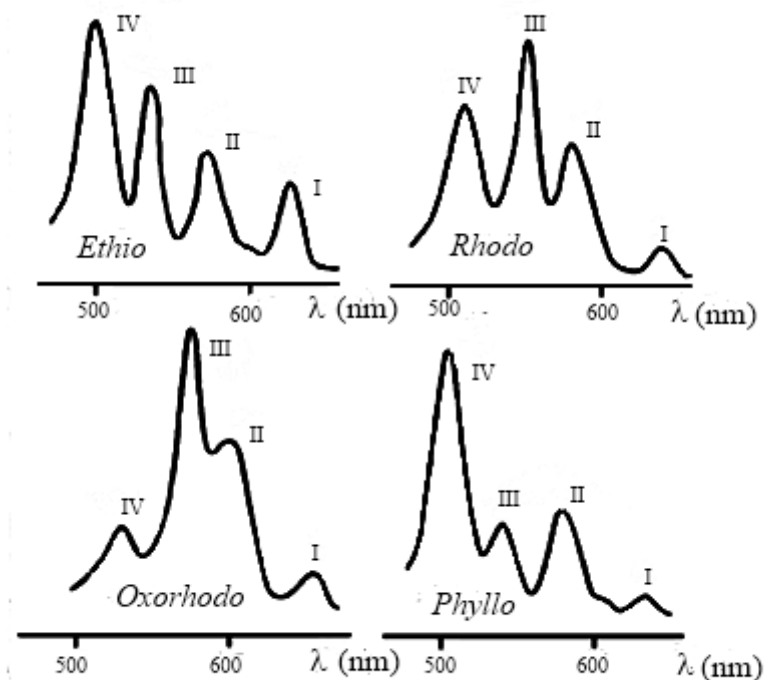


Figura 1.6. Perfis habituais das bandas Q de uma porfirina não complexada.

No caso em que o macrociclo porfirínico se encontra protonado ou complexado (Fig. 1.7.) são normalmente visíveis apenas duas bandas Q às quais se atribui a designação β e α .

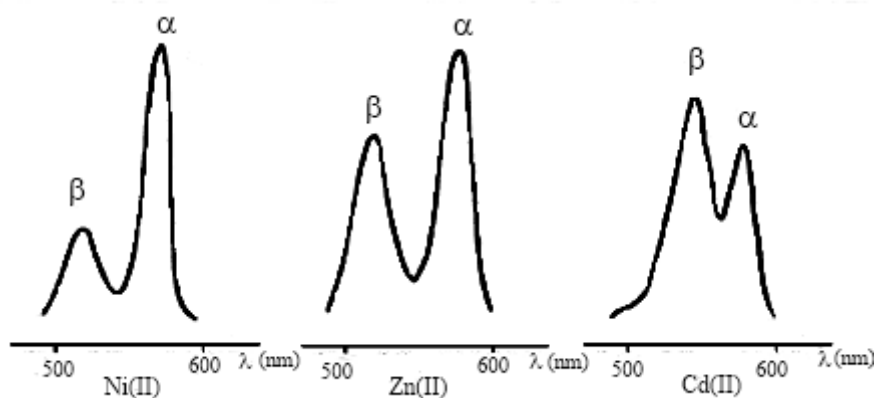


Figura 1.7. Bandas Q da octaetilporfirina complexada com diferentes metais.

Ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) são uma das maiores evidências da natureza aromática do macrociclo.¹

Estes espectros mostram que o efeito anisotrópico devido à corrente eletrônica do anel desprotege os prótons *meso* e os prótons β -pirrólicos, surgindo os sinais correspondentes à ressonância destes a desvios químicos entre δ 7 e 9 ppm. Os prótons *meso*, estando ligados a carbonos deficientes em elétrons, vêm os sinais devidos à sua ressonância desviados para campos mais baixos que os sinais devidos à ressonância dos prótons β -pirrólicos. Contudo, os sinais gerados pela ressonância dos prótons centrais N-H surgem desviados para campos mais altos (δ entre -2 e -3 ppm) que o sinal gerado pela ressonância dos prótons do TMS (zero arbitrário para medidas de RMN em soluções não aquosas), devido à forte blindagem que estes prótons sofrem por parte da corrente eletrônica que existe em torno do macrociclo.¹

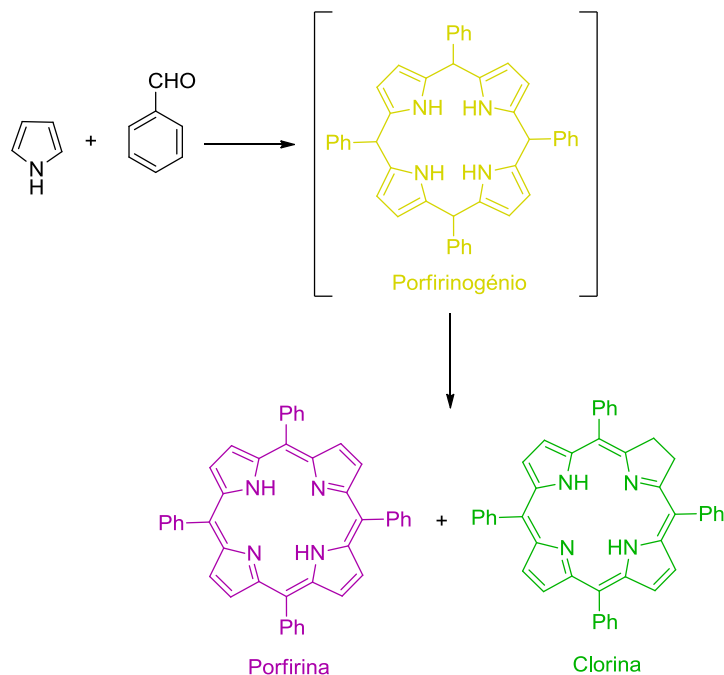
Síntese de macrociclos porfirínicos – História e métodos de síntese da 5,10,15,20-tetrafenilporfirina

A síntese de macrociclos porfirínicos é uma temática que tem vindo a ser explorada desde o início do século XX. Como tal, e dada a variedade de métodos já estudados para obter porfirinas com diferentes graus e tipos de substituição, esta secção irá debruçar-se apenas sobre a síntese de porfirinas *meso*-substituídas, em particular a 5,10,15,20-tetrafenilporfirina (**TPP**), uma vez que este é o composto sobre o qual assenta todo o trabalho experimental desta dissertação.

O primeiro método de síntese da **TPP** foi desenvolvido por Rothmund, em 1941,²⁴ seis anos depois de o mesmo autor ter apresentado à comunidade científica a primeira síntese de porfirinas *meso*-substituídas.²⁵ A metodologia de Rothmund baseava-se no aquecimento de uma solução de pirrol e benzaldeído em piridina a 220 °C durante 48 horas, num tubo selado em atmosfera de azoto. No entanto, os rendimentos eram muito baixos (na ordem dos 10%) e a porfirina aparecia contaminada com a correspondente clorina (Fig.

Porfirinas – Generalidades

1.8.i.). Além disso, o método exigia elevadas concentrações e alta temperatura, condições que o tornavam limitativo. Todavia, esta abordagem constituiu um marco na síntese de porfirinas *meso*-substituídas.²⁴



Autores	Ano	Condições	η (TPP) (%)
Rothmund <i>et al.</i>	1941	i) Piridina, 220 °C, ausência de O ₂	10 ⁺
Adler <i>et al.</i>	1967	ii) Ácido propanoico ou ácido acético, O ₂ , refluxo	20 ⁺
Lindsey <i>et al.</i>	1987	iii) 1. BF ₃ .Et ₂ O, 2. DDQ	40*
Gonsalves <i>et al.</i>	1991	iv) Ácido acético, nitrobenzeno, 120 °C	30*

+ Contaminação com respectiva clorina

* Livre de clorina

Figura 1.8. Vias sintéticas para obtenção de TPP.

Outros autores, inspirados pelo trabalho de Rothmund, debruçaram-se sobre esta temática e propuseram outros métodos com claras vantagens relativamente ao primeiro. Adler e colaboradores reportaram, nos anos 60,^{26,27} a condensação de uma mistura equimolar de pirrol e benzaldeído em ácidos carboxílicos em refluxo e na presença de ar, com obtenção da **TPP** em rendimentos na ordem dos 20% (Fig. 1.8.ii.). Esta metodologia resolveu o problema dos rendimentos baixos, porém o problema de contaminação do produto com a respetiva clorina persistia.

Já nos anos 80, Lindsey tentou minimizar as reações secundárias durante a síntese de porfirinas usando uma sequência de dois passos (Fig. 1.8.iii.). O primeiro passo consistia na condensação do pirrol com o benzaldeído em CH_2Cl_2 , à temperatura ambiente, durante 30 a 60 minutos, usando como catalisador o ácido trifluoroacético ou trifluoreto de boro. No segundo passo procedia-se à oxidação do porfirinogénio formado com DDQ ou *p*-cloranil em quantidades estequiométricas e à temperatura ambiente. Esta metodologia permitiu obter a **TPP** com cerca de 40% de rendimento. Contudo, apesar dos rendimentos satisfatórios obtidos por Lindsey, o método não era ainda o ideal, uma vez que o uso de grandes quantidades de quinonas tornava o processo de separação da porfirina muito difícil, moroso e dispendioso.²⁸

Nos anos 90, Gonsalves *et al.* apresentou algumas modificações ao método de Lindsey que, sem dúvida, permitiram contornar as dificuldades e desvantagens do método anterior. A proposta de Gonsalves e colaboradores consistiu na condensação do pirrol com benzaldeído, na presença de uma mistura de ácido acético ou ácido propanoico com 30% de nitrobenzeno, em refluxo, a 120 °C durante cerca de uma hora. O ácido acético ou ácido propanoico funciona como solvente e catalisador e o nitrobenzeno como agente oxidante do porfirinogénio formado, de modo a obter a porfirina pretendida (Fig. 1.8.iv.). A **TPP** é obtida sem qualquer clorina e pode ser facilmente cristalizada no meio reacional, por adição de MeOH.²⁹

Esta última metodologia foi a escolhida para preparar a **TPP**, que serviu de material de partida ou de referência de todo o trabalho experimental descrito nesta tese.

Mais recentemente, o método do nitrobenzeno/ácido acético ou ácido propanoico tem vindo a ser usado com recurso a micro-ondas, ao invés das fontes de aquecimento clássicas.^{30,31} Um dos mais recentes trabalhos publicados nesta área pertence a Cavaleiro e

colaboradores, e a **TPP** foi obtida com cerca de 35% de rendimento após 5 minutos de reação.³¹

Aplicações de macrociclos porfirínicos

As aplicações de macrociclos porfirínicos cobrem um enorme número de domínios científicos, facto que está diretamente relacionado com todas as suas propriedades únicas.

Como tal, vários grupos de investigação concentram esforços na busca de novos sistemas porfirínicos para utilização em catálise,³²⁻³⁴ sensores óticos,³⁵⁻³⁷ sistemas optoelectrónicos, semicondutores, supercondutores, ótica não-linear,³⁸ sistemas supramoleculares,³⁹ células fotovoltaicas,⁴⁰ entre outros.

Várias estruturas porfirínicas têm sido também estudadas na construção de modelos biomiméticos do processo fotossintético. Esta representa uma das aplicações com maior impacto económico e social, uma vez que visa solucionar questões relacionadas com os combustíveis não renováveis. O objetivo será construir sistemas que possam converter energia solar em energia elétrica. Como tal, os químicos sintéticos têm criado sistemas de porfirinas acoplados a unidades aceitadoras de eletrões, como quinonas⁴¹ e fulerenos⁴². Nestes sistemas a unidade porfirínica funciona como cromóforo, absorvendo energia na região do visível e transferindo um eletrão para o aceitador a ela acoplada. A transferência do eletrão permite a formação de uma espécie radical e consequente separação de cargas. A eficiência do processo é inversamente proporcional à rapidez com que o sistema volta ao estado fundamental.⁴³

Contudo, é na medicina que estes compostos têm ganho particular destaque, devido às suas características fotossensibilizadoras, através de uma terapêutica que é denominada por terapia fotodinâmica (PDT).

De uma maneira geral a PDT é uma metodologia de destruição de células indesejáveis, fazendo uso de um composto fotossensibilizador (PS) na presença de oxigénio molecular e luz. O PS adequado possui características estruturais que permitem a sua acumulação preferencial em tecidos ou células tumorais (Fig.1.9.).¹

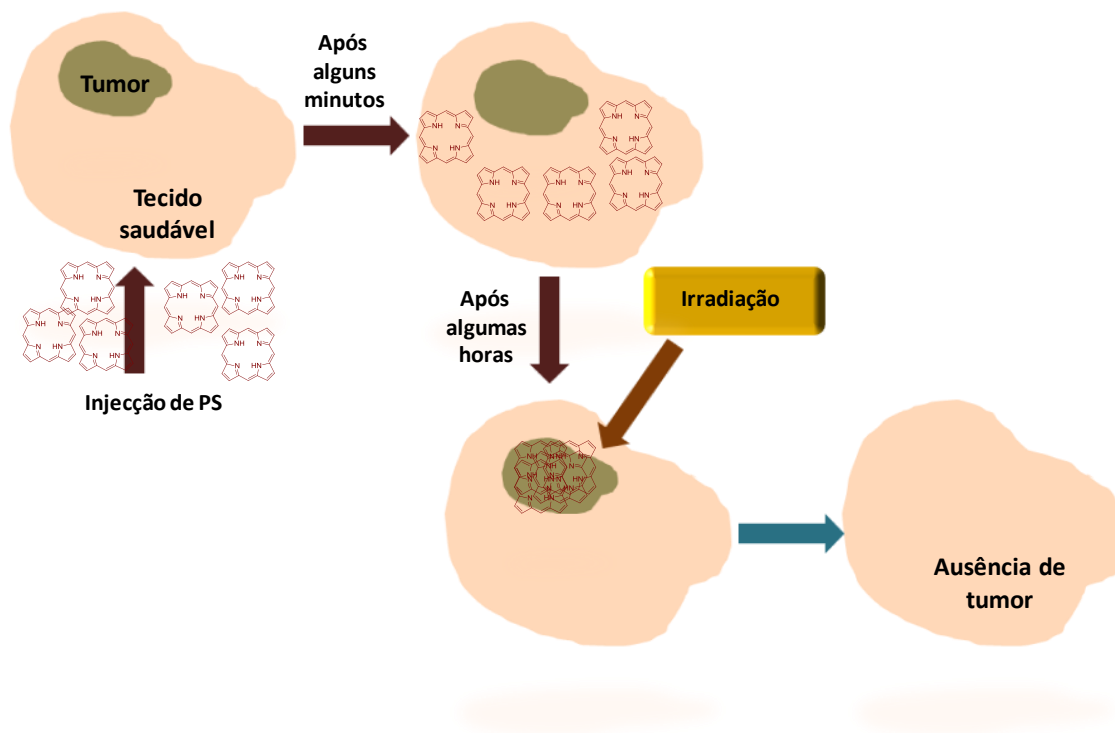


Figura 1.9. Esquema simplificado do processo de PDT.

Após este processo, a zona afetada é irradiada com luz apropriada, o que desencadeia um processo de ativação do oxigênio molecular. Este oxigênio, que passa a estar num estado de energia que o torna mais reativo e com possibilidade de formar espécies de oxigênio citotóxicas, participa em vários processos de oxidação de diferentes biomoléculas constituintes da célula, que conduzem à destruição da mesma (Fig.1.9.).¹

Esta terapia, que encontra uma vasta aplicação na área da detecção e tratamento oncológico,⁴⁴ será abordada em pormenor no capítulo III desta dissertação, uma vez que parte do trabalho contemplado nessa secção inclui uma avaliação preliminar do potencial de alguns dos compostos sintetizados em PDT.

O processo fotodinâmico tem vindo também a ser estudado na medicina como solução para a eliminação de bactérias,⁴⁵ fungos⁴⁶ e vírus.⁴⁷ Em particular, o grupo de investigação do professor Cavaleiro tem vindo a fazer um trabalho extenso nesta área.⁴⁸ Mais recentemente, o mesmo grupo tem vindo a dedicar-se fortemente à aplicação do método fotodinâmico na destruição de microrganismos ambientais.⁴⁹

1.1. Breve apresentação do trabalho desenvolvido

A síntese de macrociclos porfirínicos contendo novas funcionalidades e propriedades continua a representar uma área de elevado interesse na comunidade científica. Como tal, este trabalho visou o desenvolvimento de novos derivados porfirínicos β -substituídos. Para tal, usou-se a **TPP** como núcleo porfirínico. A partir desta foi sintetizada uma pirrolo[3,4-*b*]porfirina, composto que serviu de plataforma de síntese para os compostos descritos nos dois capítulos que se seguem. A presença do anel pirrólico exterior ao macrociclo, permitiu estudar reações de cicloadição [4+2] com diferentes dienófilos, onde se incluiu o acetilenodicarboxilato de dimetilo (DMAD) e o oxigénio singlete ($^1\text{O}_2$), com obtenção das correspondentes benzo- e 1,3-dioxopirroloporfirinas, respetivamente.

A família de benzoporfirinas desenvolvidas e descritas no capítulo II, foi já alvo de estudo por parte de outros grupos de investigação. Neste trabalho propõe-se uma via sintética diferente relativamente à que se encontra já reportada na literatura. Todavia, esta classe de compostos não havia sido ainda explorada em termos de funcionalização até à presente data, o que conferiu um carácter inovador a todo o trabalho desenvolvido nesse capítulo.

O grupo de 1,3-dioxopirroloporfirinas apresentado no capítulo III desta dissertação constitui uma nova família de compostos completamente inexplorada na química das porfirinas. A presença do grupo 1,3-dioxopirrolilo traduziu-se em propriedades bastante interessantes do ponto de vista fotofísico, nomeadamente no que diz respeito às bandas de absorção na gama do visível. Este ponto serviu de base para a realização de alguns estudos *in vitro* com o intuito de avaliar a potencialidade de alguns dos derivados obtidos em PDT.

1.2. Referências

- [1] Milgrom, L.R. *The colours of life*, **1997**; Oxford University Press, Oxford, United Kingdom.
- [2] Moss, G.P. *Pure Appl. Chem.*, **1987**, 59, 779-832.
- [3] Manso, C. *Bioquímica Humana*, **1977**; Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, Portugal,
- [4] Manso, A.; Freire, A.; Azevedo, M. *Introdução à Bioquímica*, **1986**; Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, Portugal.
- [5] Cavaleiro, J. A. S.; Smith, K. M. *Rev. Port. Quím*, **1989**, 31, 29.
- [6] http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1930/ data de consulta: Dezembro de 2011
- [7] Morrison, R.; Boyd, R. *Química Orgânica*, **1996**; Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, Portugal.
- [8] Janson, T. R.; Katz, J. J. *The Porphyrins: Physical Chemistry-Part B*, **1978**, eds. Dolphin, D.; Academic Press, New York, USA.
- [9] Hombrecher, H. K.; Gherdan, V. M.; Ohm, S.; Cavaleiro, J. A. S.; Neves, M. G. P. M. S.; Condesso, M. F. *Tetrahedron*, **1993**, 49, 8569-8578.
- [10] (a) Silva, A. M. G.; Faustino, M. A. F.; Silva, T. M. P. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2002**, 1774–1777 (b) Moura, N. M. M.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Duarte, A. C.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2011**, 5, 652-658.
- [11] Tomé, A. C.; Lacerda, P. S. S.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Chem. Commun.*, **1997**, 1199-1200.

- [12] Silva, A. M. G.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Chem. Commun.*, **1999**, 1767–1768.
- [13] Cavaleiro, J. A. S.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2000**, 4, 532-537.
- [14] Cavaleiro, J. A. S.; Neves, M. G. P. M. S. Tomé, A. C. *Arkivoc*, **2003**, xiv, 107-130.
- [15] Silva, A. M. G.; Cavaleiro, J. A. S. *Progress Heterocycl. Chem.*, **2008**, 19, 44-69.
- [16] Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2009**, 13, 408-414.
- [17] Cavaleiro, J. A. S.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S. *Handbook of Porphyrin Science*; Vol. 2, **2010**; eds. Kadish, K.; Smith, K. M.; Guillard, R.; World Scientific Publishing Company, Singapore.
- [18] Smith, K. M. *Comprehensive Organic Chemistry - The Synthesis and Reactions of Organic Compounds* **1979**; Pergamon Press, Oxford, UK.
- [19] Cowan, J. A. *Inorganic Biochemistry: an introduction*, **1997**; Wiley-VCH, New York, USA.
- [20] Scheer, H.; Kats, J. J. *Porphyrins and Metalloporphyrins*, **1975**; eds. Smith, K. M., Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, The Netherlands.
- [21] Janson, T. R.; Katz, J. J. *The Porphyrins: Physical Chemistry - Part. B*, **1978**; eds. Dolphin, D., Academic Press, New York, USA.
- [22] Gouterman, M. *The Porphyrins*, **1978**, eds. Dolphin, D.; Academic Press, New York, USA.
- [23] L. Eales, *The Porphyrins: Biochemistry – Part A*, **1979**; eds. Dolphin, D. Academic Press, New York, USA.

- [24] Rothemund, P.; Menotti, A. R. *J. Am. Chem. Soc.*, **1941**, 63, 267–270.
- [25] Rothemund, P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1935**, 57, 2010–2011.
- [26] Adler, A. D.; Longo, F. R.; Shergalis, W. *J. Am. Chem. Soc.*, **1964**, 86, 3145–3149.
- [27] Adler, A. D.; Longo, F. R.; Finarelli, J. D.; Goldmacher, J.; Assour, J.; Korsakoff, L. *J. Org. Chem.*, **1967**, 32, 476–476.
- [28] Lindsey, J. S.; Schreiman, I. C.; Hsu, H. C.; Kearney, P. C.; Marguerettaz, A. M. *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 827–836.
- [29] Gonsalves, A. M. d'A. R.; Varejão, J. M. T. B.; Pereira, M. M. *J. Heterocycl Chem.*, **1991**, 28, 635-640.
- [30] Nascimento, B. F. O.; Pineiro, M.; Rocha Gonsalves, A. M. d' A.; Silva, M. R.; Beja, A. M.; Paixão, J. A. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2007**, 11, 77-84.
- [31] De Paula, R.; Faustino, M. A. F.; Pinto, D. C. G. A.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Heterocyclic Chem.*, **2008**, 45, 453-459.
- [32] Che, C.-M.; Lo, V. K.-Y.; Zhou, C.-Y.; Huang, J.-S. *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, 40, 1950-1975.
- [33] Simões, M. M. Q.; De Paula, R.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2009**, 13, 589-596.
- [34] Rebelo, S. L. H.; Simões, M. M. Q.; Neves, M. G. P. M. S.; Silva, A. M. S.; Tagliatesta, P.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2005**, 135-142.
- [35] Stich, M. I. J.; Fischer, L. H.; Wolfbeis, O. S. *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 3102-3114.
- [36] Beer, P. D.; Drew, M. G. B.; Jagessar, R.; *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1997**, 881-886.
- [37] Jagessar, R. C.; Shang, M.; Scheidt, W. R.; Burns, D. H.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120, 11684-11692.

- [38] Senge, M. O.; Fazekas, M.; Notaras, E. G. A.; Blau, W. J.; Zawadzka, M.; Locos, O. B.; Mhuirheartaigh, E. M. N. *Adv. Mat.*, **2007** 19 2737-2774.
- [39] Drain, C. M.; Russell, K. C.; Jean-Marie Lehn, K. C. *Chem. Commun.*, **1996**, 337-338.
- [40] Walter, M. G.; Rudine, A. B.; Wamser, C. C. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2010**, 14, 759-792.
- [41] Kurreck, H.; Huber, M. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1995**, 34, 849-866.
- [42] Guldi, D. M. *Chem. Soc. Rev.*, **2002**, 31, 22-36.
- [43] Benniston, A. C.; Harriman, A. *Mater. Today*, **2008**, 11, 26-34.
- [44] *The Porphyrin Handbook – Applications: Past, Present and Future*, **2000**, eds Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R.; Academic Press, New York, USA.
- [45] Kharkwal, G. B.; Sharma, S. K.; Huang, Y.-Y.; Dai, T.; Hamblin, M. R. *Lasers Surg. Med.*, **2011**, 43, 755–767.
- [46] Lyon, J. P.; Moreira, L. M. ; de Moraes, P. C. G. ; dos Santos, F. V. ; de Resende, M. A. *Mycoses*, **2011**, 54, E265-E271.
- [47] Dai, T.; Huang, Y.-Y.; Hamblin, M. R. *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, **2009**, 6, 170–188.
- [48] Carvalho, C. M. B.; Tomé, J. P. C.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Costa, L.; Alves, E.; Oliveira, A.; Cunha, Â. ; Almeida, A. J. *Porphyrins Phthalocyanines*, **2009**, 13, 574–577.
- [49] (a) Carvalho, C. M. B.; Gomes, A. T. P. C.; Fernandes, S. C. D.; Prata, A. C. B.; Almeida, M. A.; Cunha, M. A.; Tomé, J. P. C.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Lin, Z.; Rainho, J. P.; Rocha, J.; *Photochem. Photobiol. B. Biol.*, **2007**, 88, 112-118 (b) Alves, E.; Costa, L.; Carvalho, C. M. B.; Tomé, J. P. C.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Cunha, M. A.;

Mendo, S.; Almeida, A. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2008**, 7, 415-422 (c) Alves, E.; Costa, L.; Carvalho, C. M. B.; Tomé, J. P. C.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Cunha, M. A.; Almeida, A. *BMC Microbiology*, **2009**, 9 (70) (d) Costa, L.; Carvalho, C. M. B.; Tomé, J. P. C.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Cunha, M. A.; Almeida, A. *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2010**, 9, 1126–1133 (e) Tavares, A. Carvalho, C. M. B.; Tomé, J. P. C.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Cunha, M. A.; Almeida, A. *Mar. Drugs*, **2010**, 8, 95-105. (f) Carvalho, C. M. B.; Alves, E.; Costa, L.; Almeida, M. A.; Cunha, M. A.; Tomé, J. P. C.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Lin, Z.; Rocha, J.; *ACS Nano*, **2010**, 4, 7133-7140.

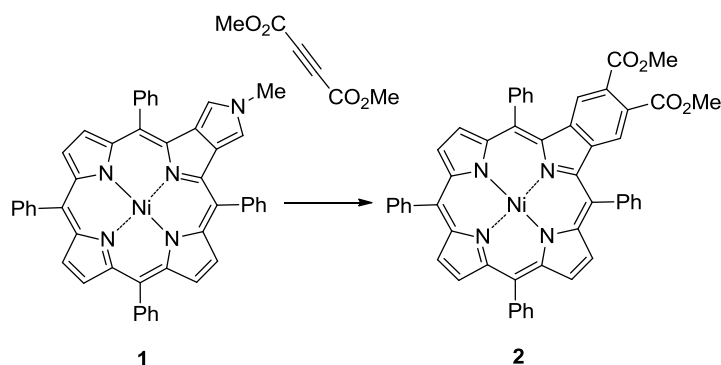
Capítulo II

Benzoporfirinas – Síntese e Reatividade

2. Benzoporfirinas – Síntese e Reatividade

2.1. Preâmbulo

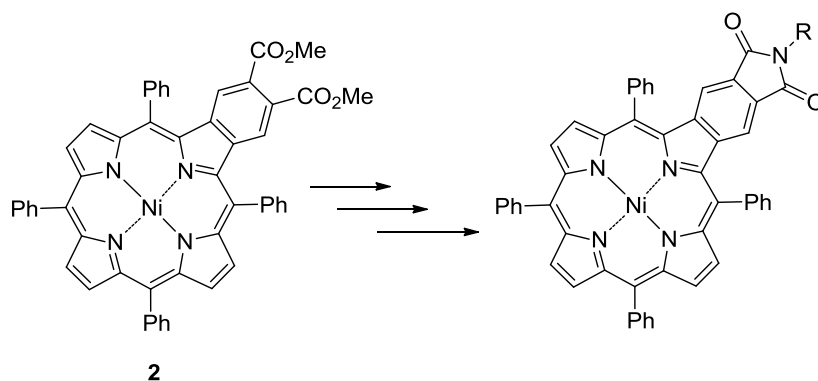
Neste capítulo será descrito o trabalho realizado para preparar de uma forma eficiente a benzoporfirina **2** a partir da *N*-metilpirrolo[3,4-*b*]porfirina **1** (Esquema 2.1.).



Esquema 2.1.

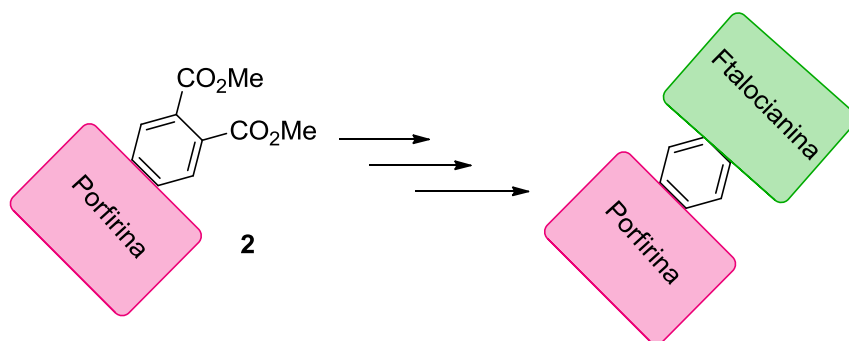
A pertinência deste trabalho está relacionada com a inexistência de qualquer estudo na literatura contemplando a reatividade do macrociclo **2**, bem como a importância que este precursor poderá adquirir na síntese de derivados porfirínicos contendo um sistema π expandido. Neste âmbito, segue-se uma revisão dos principais processos de síntese de derivados do tipo benzoporfirina (BP), seguida de uma breve descrição bibliográfica dos processos de síntese já executados por outros autores para a obtenção e estudos de reatividade de pirroloporfirinas. Neste contexto, serão ainda apresentadas as abordagens já reportadas na literatura, considerando pirroloporfirinas como plataforma para a obtenção de benzoporfirinas.

Será também descrita a utilização da benzoporfirina **2** como ponto de partida para a obtenção de estruturas porfirínicas contendo uma unidade ftalimídica fundida em posições β -pirrólicas (Esquema 2.2.). Uma vez que as vias sintéticas usadas foram inspiradas por metodologias já conhecidas para a síntese de ftalimidas tornou-se crucial uma apresentação sumária de processos de síntese de ftalimidas e alguns aspectos globais da sua reatividade.



Esquema 2.2.

Por último serão apresentados alguns resultados sintéticos preliminares, visando o uso da benzoporfirina **2** como plataforma para a construção de díades porfirina-ftalocianina fundidas (Esquema 2.3.).



Esquema 2.3.

2.2. Benzoporfirinas – Conceitos, História e Processos de Síntese

As benzoporfirinas (BP) são compostos estruturalmente análogos às porfirinas e que possuem anéis benzênicos fundidos nas posições β -pirrólicas (Fig. 2.1.).

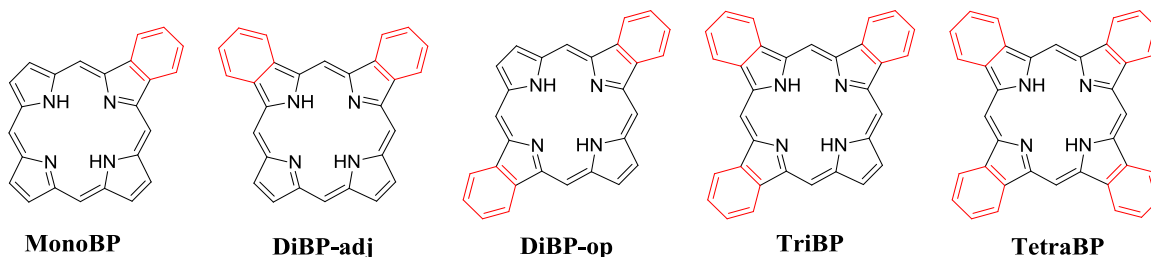


Figura 2.1. Estruturas básicas de benzoporfirinas.

Estes compostos possuem um espectro de absorção análogo ao das porfirinas, contudo, dependendo do número de anéis benzênicos, o intervalo da absorção das bandas Q apresenta-se deslocado para a região do vermelho (600–750 nm). Esta propriedade, aliada ao facto de serem bons geradores de $^1\text{O}_2$, coloca as BP, e compostos análogos, numa posição privilegiada no que diz respeito à sua aplicação terapêutica.

Segue-se uma breve revisão bibliográfica da história de macrociclos do tipo benzoporfirina, com principal destaque para os derivados monobenzoporfirínicos, uma vez que foram estes os compostos alvo de estudo deste capítulo da tese. Foram também contemplados os macrociclos do tipo dibenzoporfirina (cujos métodos de síntese estão, muitas vezes, intimamente relacionados com os derivados contendo apenas um anel benzénico) e os derivados tetrabenzoporfirínicos (dada a crescente importância atribuída a esta família de compostos).

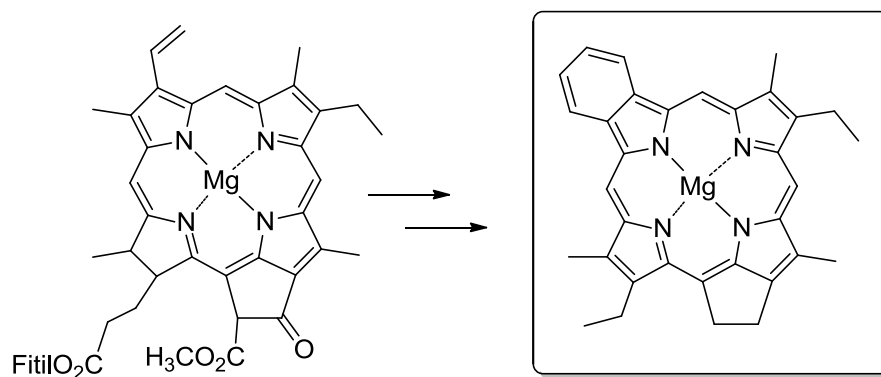
A origem de benzoporfirinas

Nos anos 30, Treibs reportou pela primeira vez a existência de macrociclos porfirínicos em combustíveis fósseis. Esta foi uma das primeiras indicações de que o petróleo tinha origem em sistemas biológicos.² A evolução dos métodos de purificação e dos métodos de caracterização estrutural permitiu, desde essa altura e até aos dias de

hoje, isolar e caracterizar inúmeras petroporfirinas com estruturas relacionadas com as do grupo heme, clorofilas e bacterioclorofilas.^{3,4}

Até aos anos 60, a espectrofotometria de UV/vis constituiu um dos métodos mais úteis para caracterizar petroporfirinas, uma vez que permitia, de um modo geral, prever a origem dos macrociclos isolados; porfirinas possuindo um espectro de visível do tipo *ethio* seriam de origem animal, e portanto derivadas da hemoglobina, enquanto que porfirinas possuindo um espectro de visível do tipo *phyllo* seriam de origem vegetal, e consequentemente derivadas de clorofilas.⁵

No início dos anos 60, Howe descobre, pela primeira vez, uma família de petroporfirinas que possuía um espectro de visível do tipo *rhodo*.⁶ Ainda nesta década, Baker e colaboradores publicaram dois trabalhos onde apresentam uma análise minuciosa de várias misturas de petroporfirinas, fazendo uso da espectrometria de massa. Tendo por base esta técnica, apresentam pela primeira vez a proposta de uma estrutura do tipo benzoporfirina para justificar a existência de espectros de visível do tipo *rhodo* em misturas de petroporfirinas.^{7,8} Os estudos de síntese realizados por Clezy e colaboradores, nas duas décadas seguintes, apoiaram esta teoria.^{9,10} Estes autores reportaram a síntese de mono e dibenzoporfirinas, mostrando que este tipo de macrociclos apresentam espectros de UV-Vis do tipo *rhodo*.^{9,10} No entanto, permanecia o enigma da origem de benzoporfirinas em combustíveis fósseis, uma vez que este tipo de estrutura não tem origem natural. Ainda na década de 70, surge uma proposta apresentada por Baker e Palmer, segundo a qual seria possível obter uma BP a partir da reação de Diels-Alder entre a clorofila *a* e quinonas naturais, nomeadamente a plastoquinona.¹¹ Esta hipótese foi suportada apenas pelos estudos de síntese que haviam sido publicados até à altura¹² e pelos que se seguiram na década de 80,¹³⁻¹⁷ e que mostravam ser possível a reação da protoporfirina IX com alguns dienófilos e em alguns casos a conversão nas respetivas benzoporfirinas. Contudo, a hipótese que previa a ocorrência de uma reação de Diels-Alder, pressupunha que a estrutura benzoporfirínica derivada da clorofila *a* possuísse o anel benzénico fundido no anel A da porfirina (posição oposta ao anel exocíclico pentagonal) (Esquema 2.4.).



Esquema 2.4.

Ainda na década de 80, Barwise e Roberts propõem a existência da estrutura **a** (Fig. 2.2.) num minério contendo matéria orgânica.¹⁸

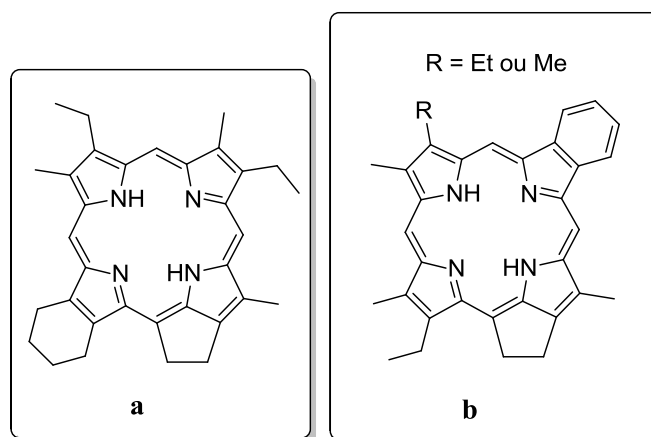


Figura 2.2. Estruturas isoladas por Barwise e Roberts (**a**) e Maxwell *et al.* (**b**) de fontes naturais.

A descoberta desta tetra-hidrobenzoporfirina **a** (Fig. 2.2.), que constituiu um potencial precursor de BP, e o facto de esta estrutura não poder ser gerada a partir de uma reação de Diels-Alder, começou a levantar suspeitas que esta não seria a via existente na natureza para a formação de BP. Esta hipótese foi confirmada quando Maxwell *et al.* isolaram os compostos **b** (Fig. 2.2.) de petróleo bruto, mostrando que o anel benzénico poderá aparecer no anel B. Neste trabalho os autores avançaram a teoria de as BP isoladas poderem ter origem na bacterioclorofila *d*.¹⁹ No final da década de 80, surge a hipótese de que as BP se formariam a partir de clorofilas de organismos

extintos.^{18,20} Contudo, se estes compostos tivessem origem nesses organismos, seria de esperar que estruturas do género não fossem encontradas em sedimentos mais recentes, o que não se verificou.¹⁸ Por esta altura, a descoberta de que a divinilclorofila *a* é comum numa alga marinha,²¹ voltou a reavivar a teoria de que poderia ocorrer uma reação de Diels-Alder, com subsequente formação de um anel benzénico no anel B da porfirina. Durante a década de 90 não se fizeram avanços significativos na descoberta das vias de formação de BP em amostras orgânicas. Apenas a partir de 2002 começam a surgir alguns trabalhos, onde esta temática volta a ser abordada.^{22,23}

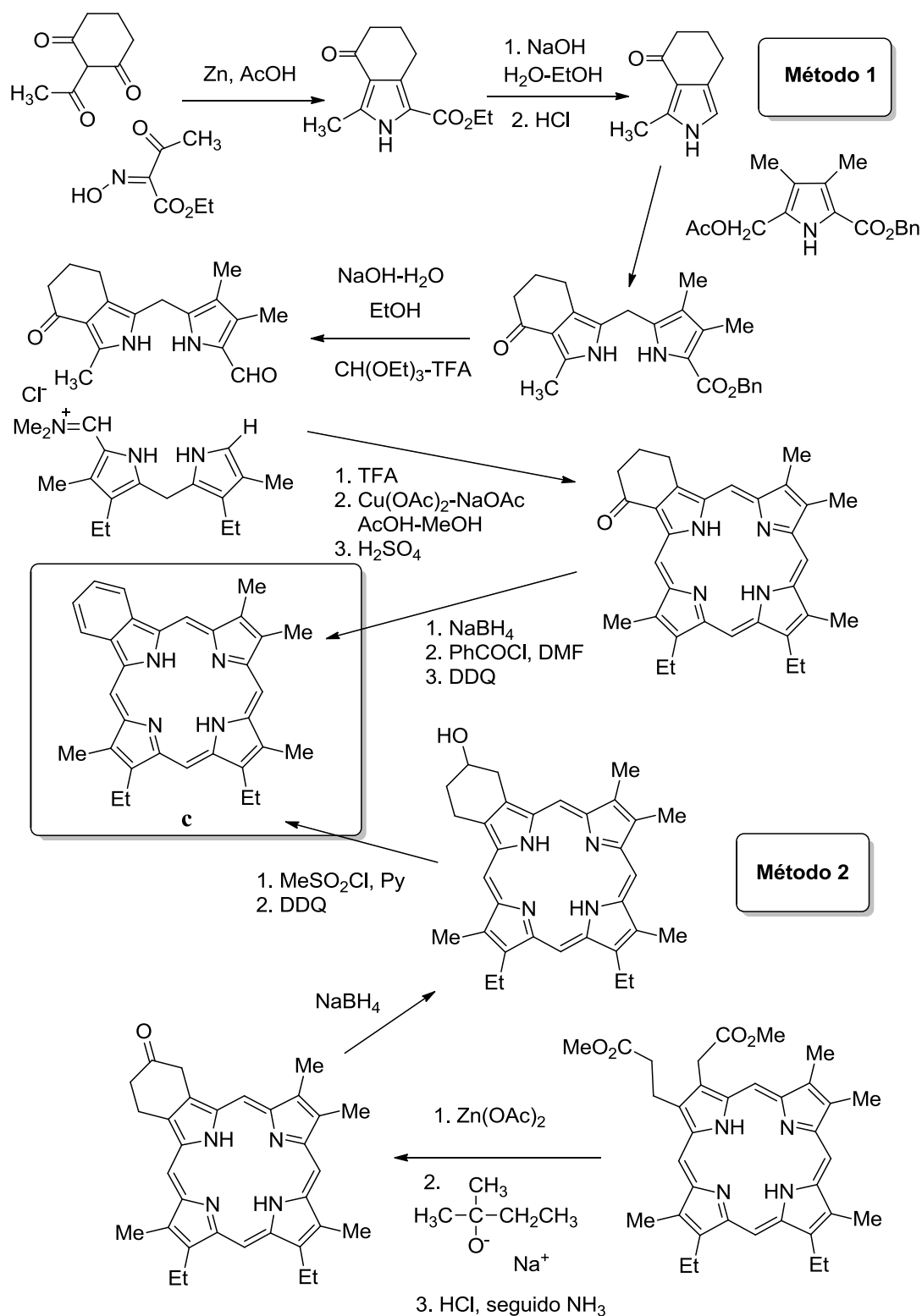
A verdadeira origem das BP existentes em diferentes amostras de matéria orgânica permanece, contudo, um mistério. Apesar disso, serviu de mote para o início dos primeiros estudos de síntese desta classe de compostos. O próximo tópico debruçar-se-á sobre esta temática, tendo o intuito de constituir uma breve revisão dos avanços feitos desde as primeiras abordagens sintéticas até aos dias de hoje.

Síntese de benzoporfirinas – mono-, di- e tetrabenzoporfirinas

Os primeiros estudos de síntese de benzoporfirinas surgiram nos anos 70,⁹ com o intuito de justificar algumas estruturas porfirínicas presentes em amostras de matéria orgânica (*e.g.* petróleo) e que apresentavam espectros de UV-vis do tipo *rhodo*. Clezy e colaboradores descreveram a síntese da monobenzoporfirina (monoBP) **c** a partir de precursores pirrólicos ou porfirínicos contendo um anel de ciclo-hexanona fundido nas posições β -pirrólicas (Esquema 2.5.).

Os autores mostraram que o sistema contendo o anel de ciclo-hexanona pode ser construído antes (Esquema 2.5., método 1) ou depois do macrociclo porfirínico ter sido sintetizado (Esquema 2.5., método 2). A análise espectrofotométrica do novo sistema benzoporfirínico sintetizado permitiu mostrar, na altura, que as séries de porfirinas com espectros de UV-Vis do tipo *rhodo* isoladas de alguns depósitos de petróleo poderiam possuir uma estrutura análoga à sintetizada.⁹

Benzoporfirinas – Síntese e Reatividade



Esquema 2.5.

Logo no início da década de 80,¹⁰ Clezy *et al.* alargam o seu trabalho à síntese de dibenzoporfirinas (diBP) isoméricas, mostrando a possibilidade de sintetizar porfirinas contendo anéis benzênicos fundidos em posições β -pirrólicas opostas ou adjacentes (Fig. 2.3.), seguindo a metodologia 2 representada no Esquema 2.5.

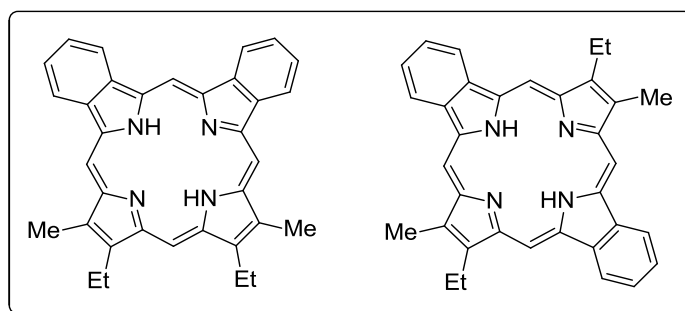


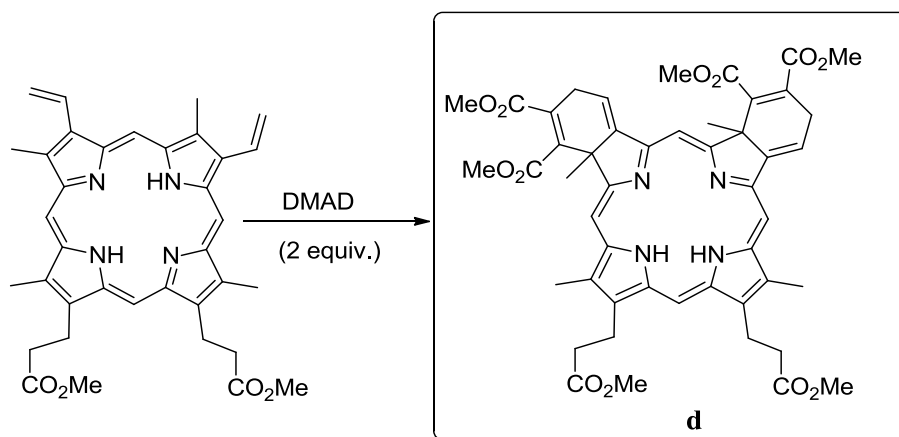
Figura 2.3. Dibenzoporfirinas sintetizadas por Clezy *et al.*¹⁰

Dolphin *et al.*, começaram também na década de 80 a desenvolver algum trabalho na área da síntese de monoBP, com o intuito de ajudar a clarificar os possíveis mecanismos envolvidos na formação de BP em amostras de petróleo. Os autores mostraram ser possível sintetizar uma monoBP a partir da reação de Diels-Alder entre a protoporfirina IX e o acetilenodicarboxilato de dimetilo (DMAD).¹⁶

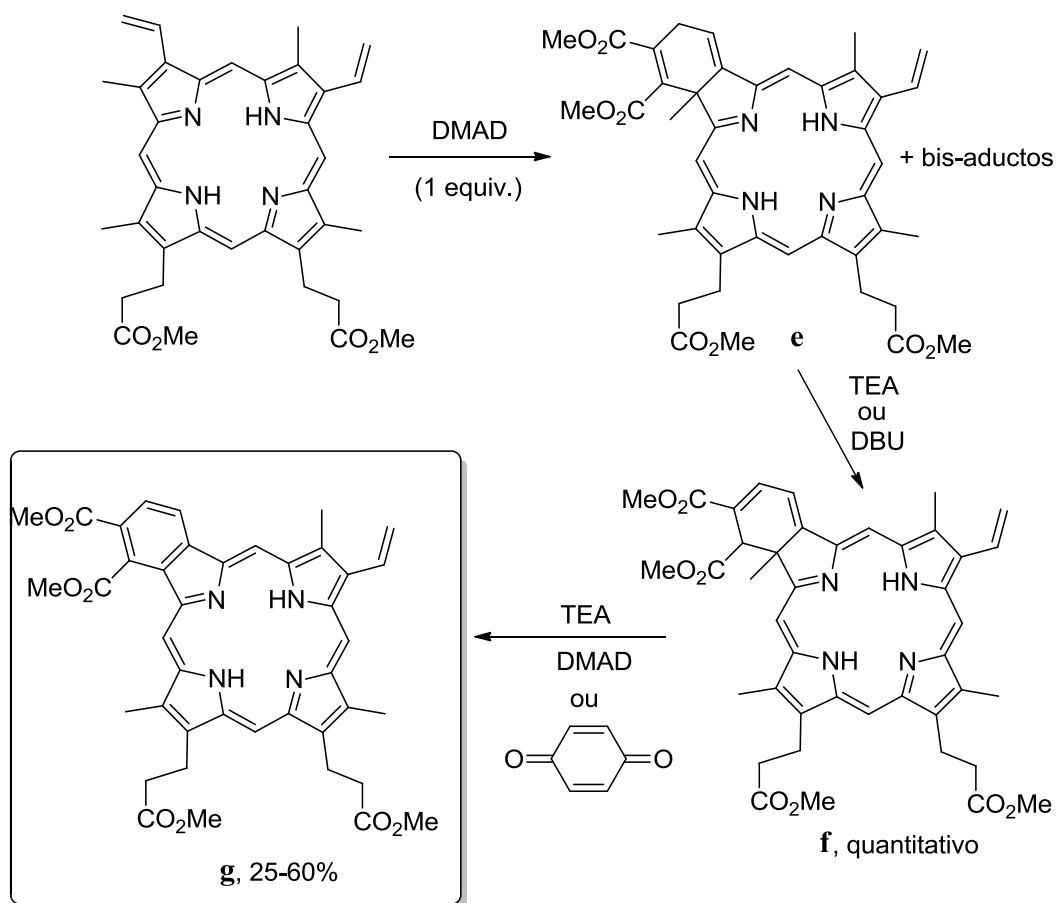
Muitos anos antes, Sweeney *et al.* tinham já mostrado ser possível a reação de cicloadição entre a protoporfirina IX e o DMAD. No entanto, estes autores reportaram unicamente a reação com 2 equiv. de dienófilo, com formação do respetivo bis-aducto **d** (Esquema 2.6.). De notar que os autores não especificaram os estereoisómeros formados.²⁴

Dolphin *et al.* testaram a mesma reação usando apenas 1 equiv. de dienófilo, provando ser possível a formação do respetivo monoadducto **e** (Esquema 2.7.), apesar de observar também a formação dos bis-aductos já observados anteriormente. Uma vez mais, não há qualquer menção ao tipo de estereoisómeros formados.¹⁶

Benzoporfirinas – Síntese e Reatividade



Esquema 2.6.



Esquema 2.7.

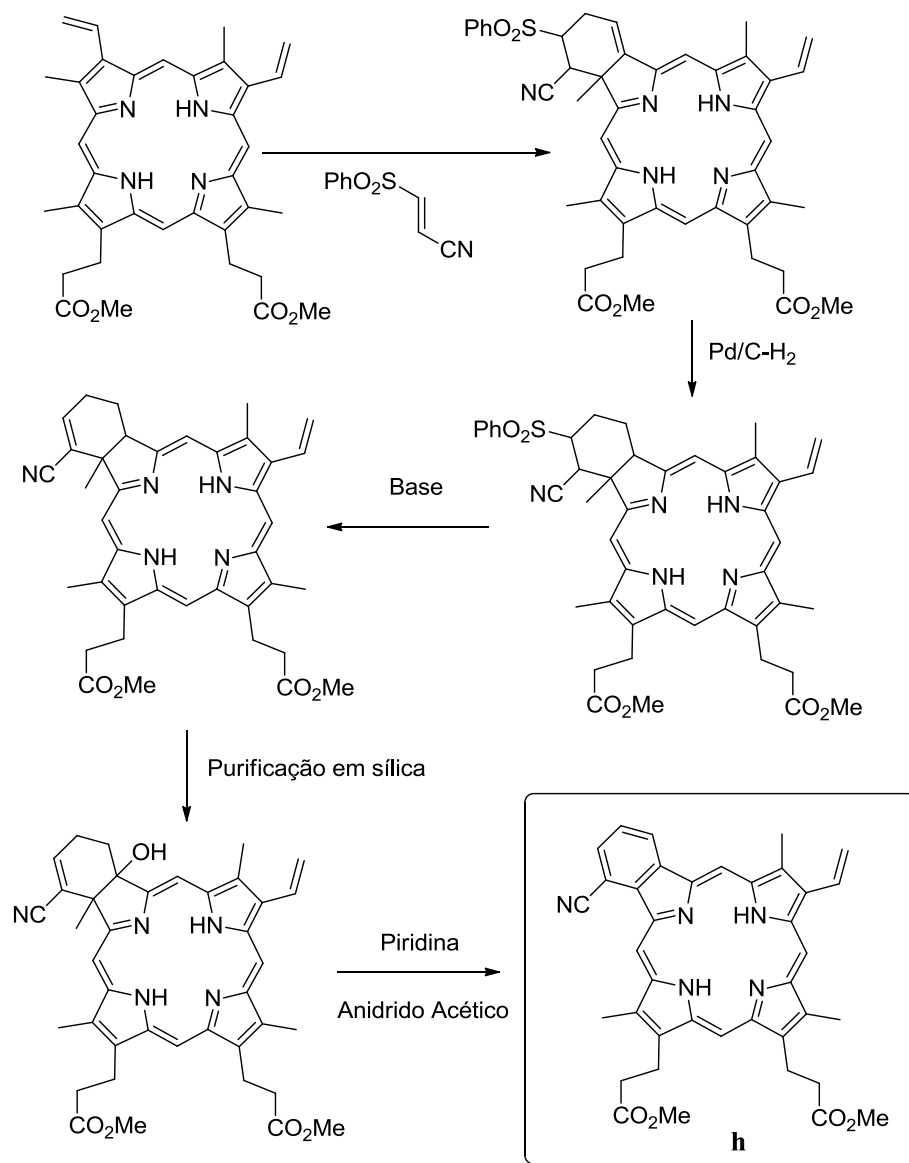
Um dos resultados interessantes obtidos pelos autores foi o facto de, após tratamento do monoadducto **e** com excesso de dienófilo, não se observar a formação do respetivo bis-adducto. Contudo, o tratamento do monoadducto **e** (ou do seu isómero **f**) com excesso de dienófilo na presença de base, conduz à formação da respetiva monoBP **g**. De modo a responder a questões relacionadas com o mecanismo desta última reação, os autores testaram também o uso de *p*-benzoquinona como substituta do dienófilo, conseguindo desta forma elevar o rendimento de 25% para 60%. Estes resultados levaram os autores a colocar a hipótese de o dienófilo estar também a funcionar como aceitador de eletrões, supondo-se estar a ocorrer a oxidação do monoadducto rearranjado a catião, seguida da eliminação do grupo metilo catalisada por base.

Os autores estenderam também a reação a outro dienófilo, o β -fenilsulfonilpropiolato de metilo, seguindo a estratégia sintética seguida para o primeiro dienófilo, tendo obtido resultados similares. Por fim, foi reportada a reação com β -fenilsulfonilacrilonitrilo, com obtenção da monoBP **h**, funcionalizada com o grupo ciano (Esquema 2.8.).¹⁶

Já nos anos 90, foram publicados alguns trabalhos, reportando vias sintéticas mais simples relativamente às descritas na década anterior. Exemplo disso, é o trabalho desenvolvido por Bonnett e MacManus,²⁵ em que os autores descrevem a síntese de uma dibenzoporfirina (diBP) contendo os anéis benzénicos em posições β -pirrólicas opostas (diBP-op), fazendo a introdução do anel benzénico sob a forma do isoindol preparado a partir da isoindolinona respetiva (Esquema 2.9.).^{25,26}

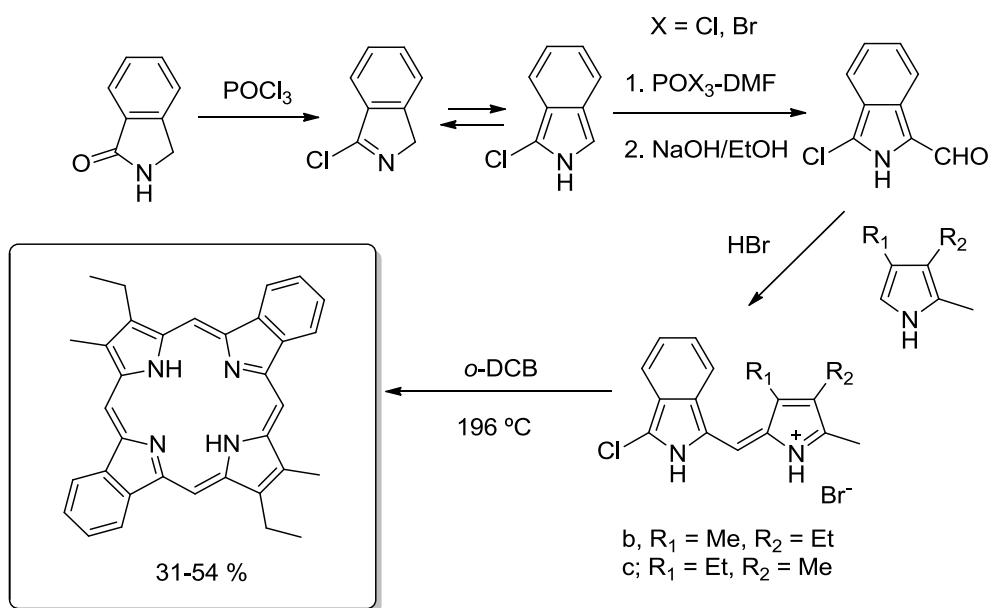
Ono e colaboradores propuseram também uma via sintética alternativa para a obtenção de monoBP não substituídas (Esquema 2.10.). Com a via sintética proposta, os autores, ultrapassaram alguns problemas que na altura se colocavam. Pirróis fundidos com anéis aromáticos, nomeadamente isoindóis, podem ser precursores de BP bastante versáteis. Contudo, o isoindol não substituído é demasiado instável para poder ser usado na preparação destes macrociclos. Os autores contornaram esta limitação construindo um precursor de isoindol, que origina o respetivo isoindol através de uma reação de retro-Diels-Alder a 200 °C. Desta forma, é possível obter o macrociclo porfirínico, sendo o passo de aromatização o último a ser levado a cabo.²⁷

Benzoporfirinas – Síntese e Reatividade

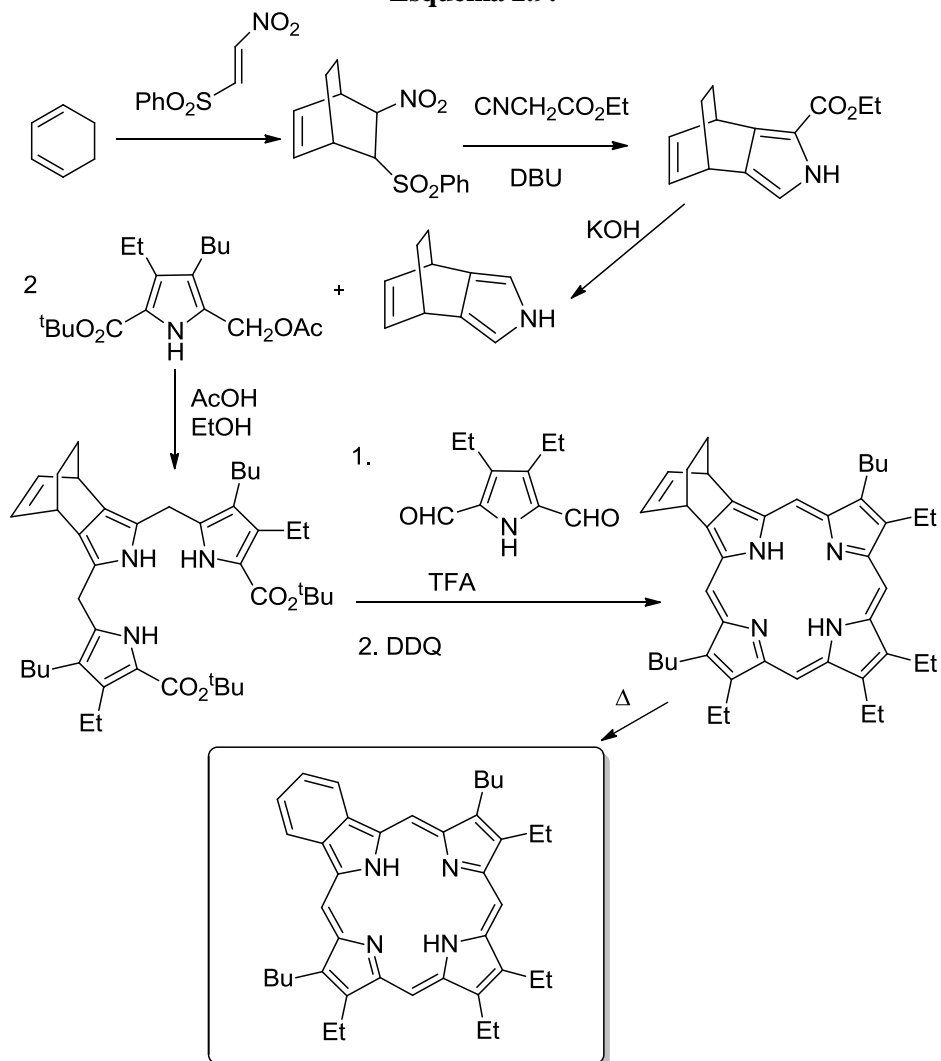


Esquema 2.8.

Benzoporfirinas – Síntese e Reatividade



Esquema 2.9.



Esquema 2.10.

É importante salientar que tanto o método dos precursores benzénicos de Bonnett e MacManus,^{25,26} como o processo de retro-Diels-Alder de Ono²⁷ foram metodologias também empregues na construção de derivados tetrabenzoporfirínicos (Fig. 2.4.).

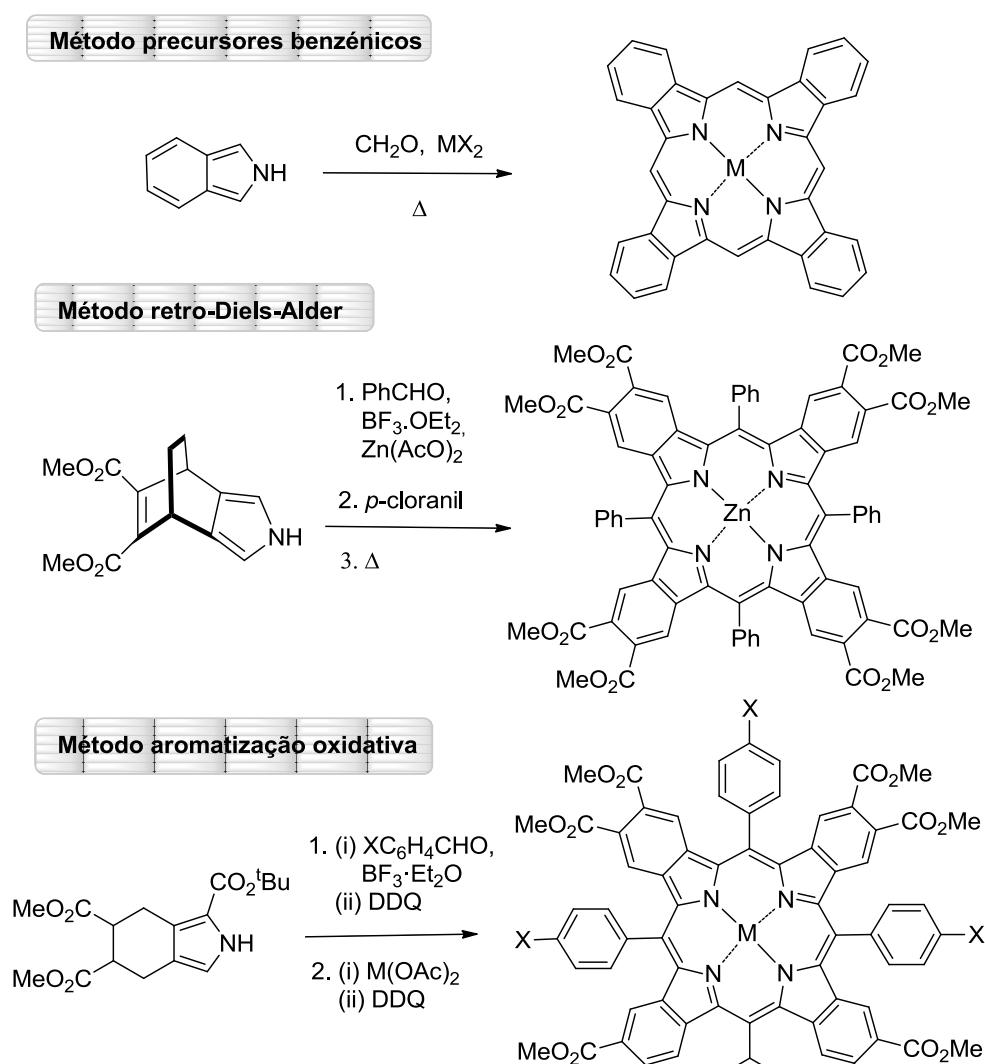


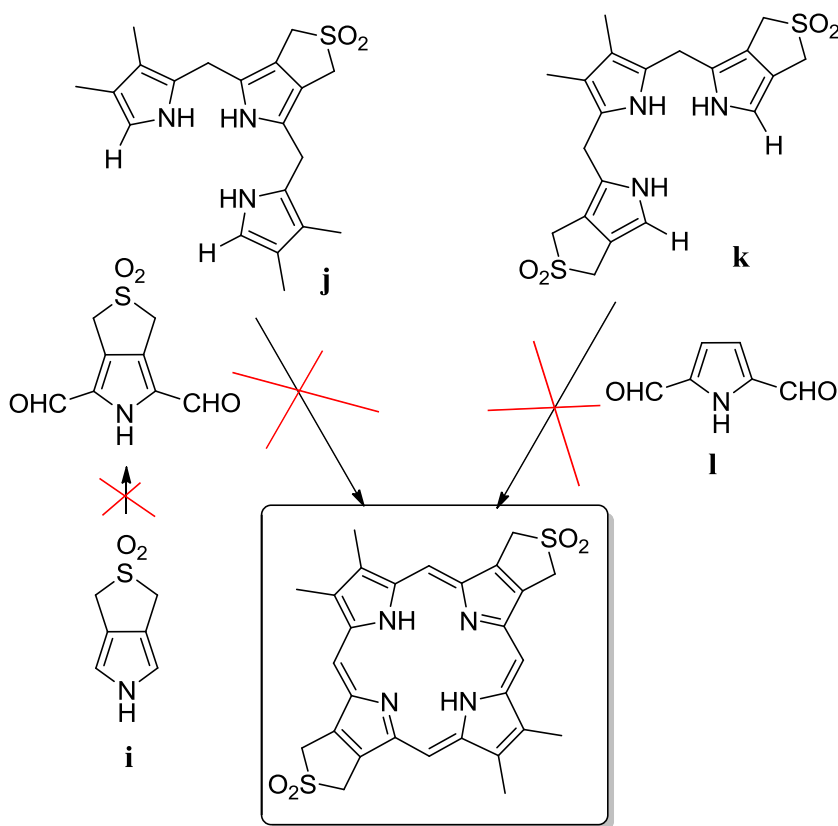
Figura 2.4. Exemplos de diferentes rotas sintéticas para obtenção de tetraBP.

O método de condensação de precursores benzénicos (Fig. 2.4.) permitiu, durante muito tempo, obter compostos do tipo tetrabenzoporfirina (tetraBP). Contudo, com a evolução dos métodos de síntese, esta metodologia foi abandonada, uma vez que padecia de baixos rendimentos, formação de muitos produtos secundários e requeria condições de reação extremas (*i.e.* fusão até 350-400 °C).²⁸ O método de reação de retro-Diels-Alder veio resolver grande parte dos problemas apresentados pela estratégia anterior, tendo sido usado com enorme sucesso, por exemplo, por Ono *et al.* para obter tetraBP com diferentes graus de substituição nos anéis benzénicos e nos grupos fenilo das posições-*meso* (Fig. 2.4.) e até mesmo tetraBP modificadas.^{27,29-33} Ao mesmo tempo, Finikova e colaboradores apresentaram, em vários trabalhos pioneiros, a utilização do método de aromatização oxidativa que apresentava claras vantagens relativamente ao método de retro-Diels-Alder, nomeadamente a utilização de componentes baratos e de obtenção fácil. Este autor mostrou que a sua metodologia permitia obter tetraBP com diferentes graus de substituição, apresentando-se por isso, como uma estratégia extremamente versátil (Fig. 2.4.). De referir ainda que a estratégia da aromatização oxidativa havia sido já usado na preparação de BP não substituídas.³⁴⁻³⁷

No final da década de 90, Smith *et al.* apresentaram uma nova abordagem para a obtenção de monoBP, onde descreveram a síntese de novos derivados deste tipo, usando como material de partida a recém descoberta pirrolo[3,4-*b*]porfirina. A temática da síntese de novas benzoporfirinas a partir de pirroloporfirinas irá ser abordada em pormenor num tópico isolado desta introdução, de modo a permitir um melhor enquadramento bibliográfico do trabalho prático descrito neste capítulo.

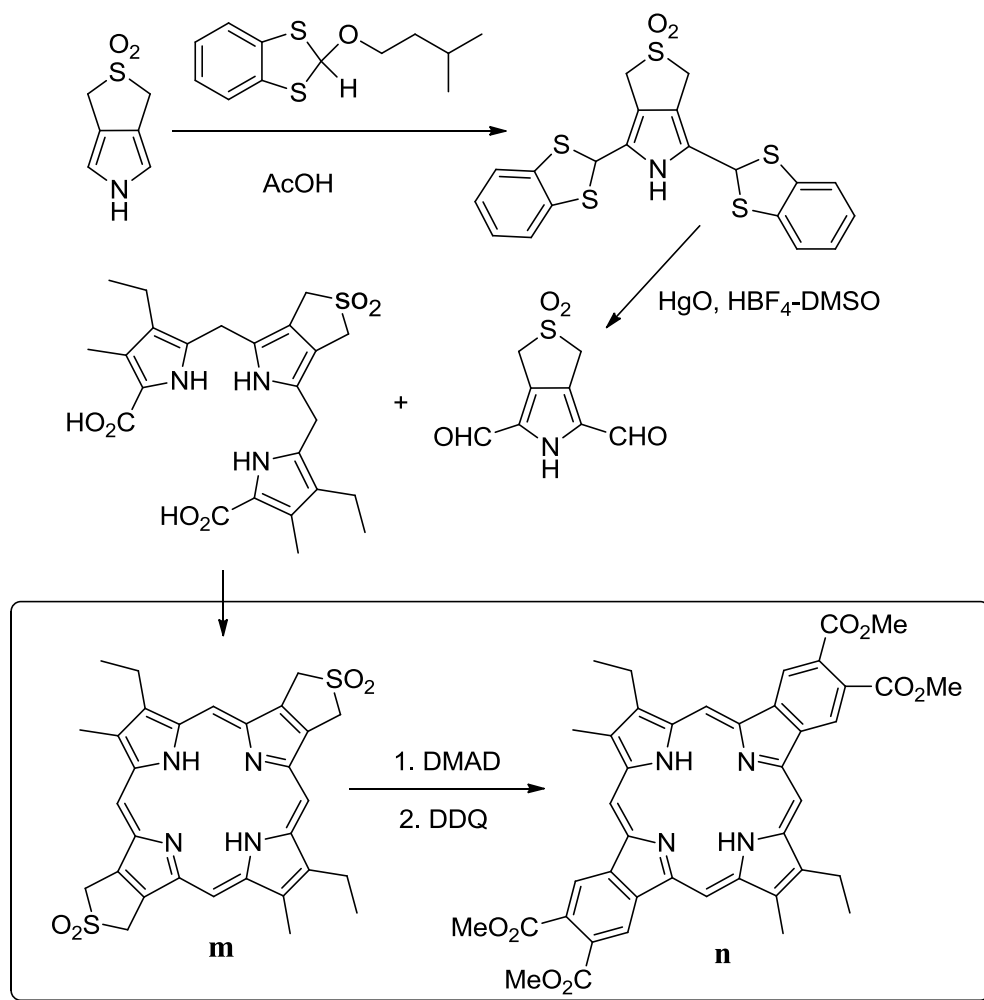
Já em 2005, Smith e Lee mostraram uma nova estratégia sintética para a obtenção de diBP contendo os anéis benzénicos em posições β -pirrónicas adjacentes (diBP-adj) ou opostas, tirando partido da química dos sulfolenopirróis.³⁸ Apesar de esta estrutura pirrónica já ser conhecida desde 1997, e de já na altura ter apresentado um elevado potencial para servir como plataforma para a síntese de novas BP,³⁷ alguns problemas que impossibilitavam a síntese de sulfolenoporfirinas, nomeadamente dissulfolenoporfirinas em posições opostas, tiveram que ser contornados. Um desses problemas prendia-se com o facto de não ser possível diformilar o sulfolenopirrol **i**, de modo a permitir a reação com o mono-sulfolenopirroltripirrano **j** (Esquema 2.8.); o outro problema prendia-se com o facto de o tripirrano contendo dois sulfolenopirróis

(**k**), não ser suficientemente nucleofílico para reagir com o pirrol-2,5-dicarbaldeído **l** (Esquema 2.11.).³⁸

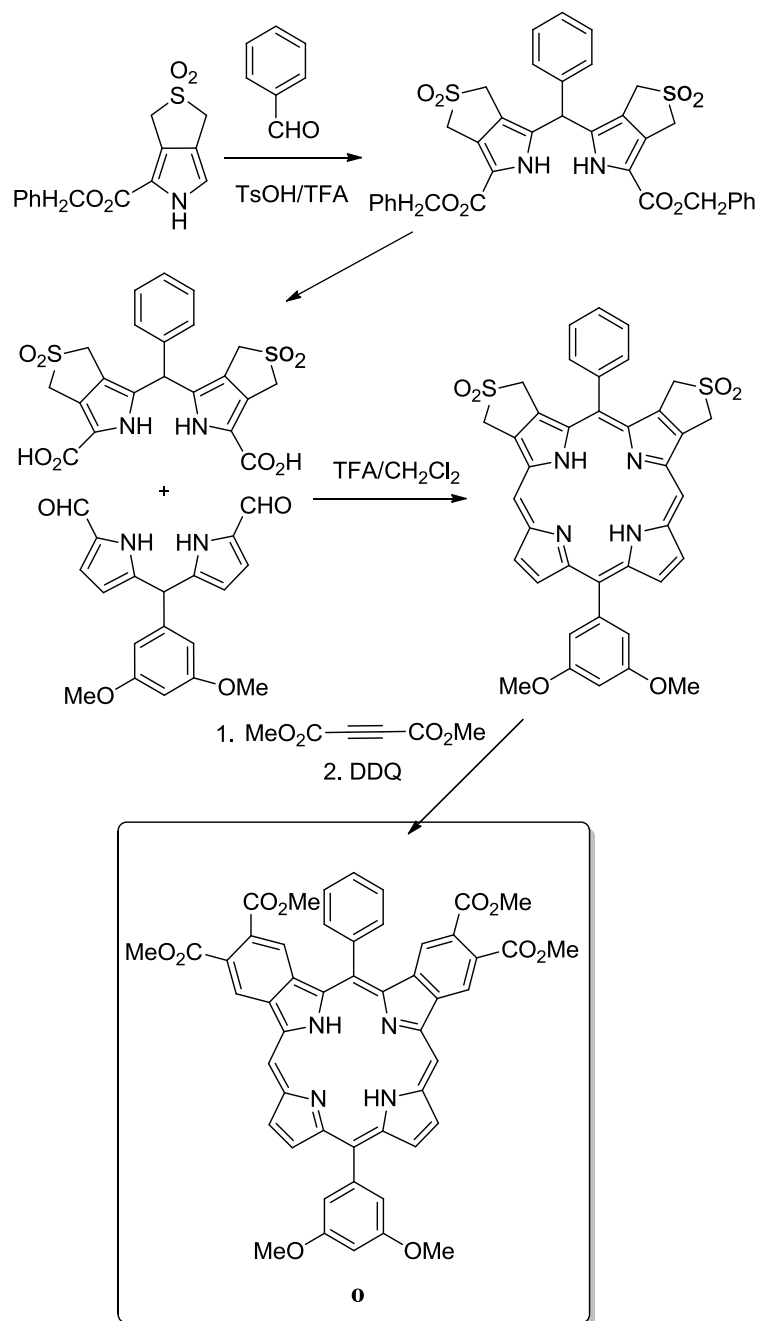


Esquema 2.11.

A estratégia seguida por Smith e Lee teve por base o desenvolvimento de uma metodologia que permitiu a diformilação do sulfolenopirrol **i** e subsequente reação com o tripirrano adequado (Esquema 2.11.). A dissulfolenoporfirina **m** permitiu a reação de Diels-Alder com DMAD e posterior oxidação, dando origem à diBP correspondente **n** (Esquema 2.12.). Os autores descreveram ainda uma forma eficiente de sintetizar DiBP-adj, fazendo uso de um dipirrometano sintetizado a partir de um sulfolenopirrol funcionalizado em posição α (Esquema 2.13.). Este dipirrometano foi condensado com outro dipirrometano não funcionalizado em posições- β dando origem à respectiva porfirina. Por fim, e seguindo a estratégia já seguida para a dissulfolenoporfirina anterior, obteve-se a DiBP-adj **o** (Esquema 2.13.).³⁸

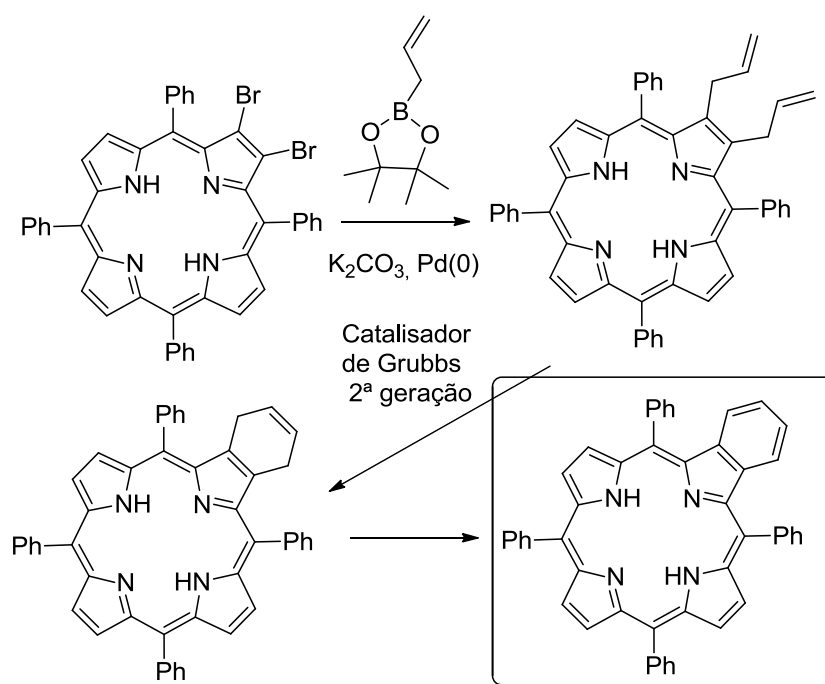


Esquema 2.12.



Esquema 2.13.

Apenas um ano depois, Smith *et al.* voltam a mostrar que é possível sintetizar monoBP e diBP fazendo uso de uma metodologia que não envolve a síntese total, mas sim utilizando o macrociclo porfirínico previamente funcionalizado. Para isso, tiraram partido da possibilidade de efetuar bromações regioselectivas do macrociclo porfirínico, recorrendo a NBS, com obtenção dos respetivos derivados di- (Esquema 2.14.) e tetrabromados em posições β -pirrólicas adjacentes ou opostas.³⁹ Os três derivados bromados são sujeitos a um acoplamento de Susuki, com obtenção das respetivas alilporfirinas.



Esquema 2.14.

As alilporfirinas obtidas são usadas como precursores numa reação de metátase intramolecular originando as hidrobenzoporfirinas correspondentes, obtendo-se após oxidação os derivados mono- (Esquema 2.14.) e dibenzoporfirínicos (Fig. 2.5.).³⁹

Em 2008, Cavaleiro *et al.* reportaram também uma via sintética de fácil acesso para a obtenção de monoBP (Esquema 2.15.) e diBP não funcionalizadas. Os autores prepararam as β -butadienil e β,β' -dibutadienilporfirinas, fazendo uso da reação de

Benzoporfirinas – Síntese e Reatividade

Wittig entre as β -formil e β,β' -diformil-*meso*-tetrafenilporfirinas com ileto de fósforo alílicos. O aquecimento das β -butadienilporfirinas sintetizadas conduziu a uma electrociclização, seguida de oxidação e obtenção das respectivas benzoporfirinas em rendimento satisfatório.⁴⁰

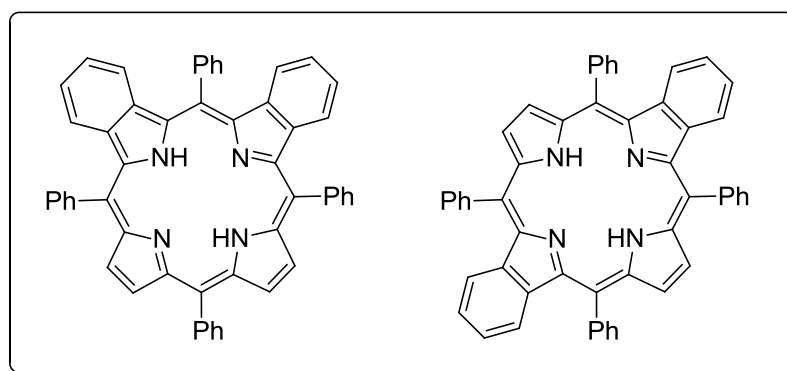
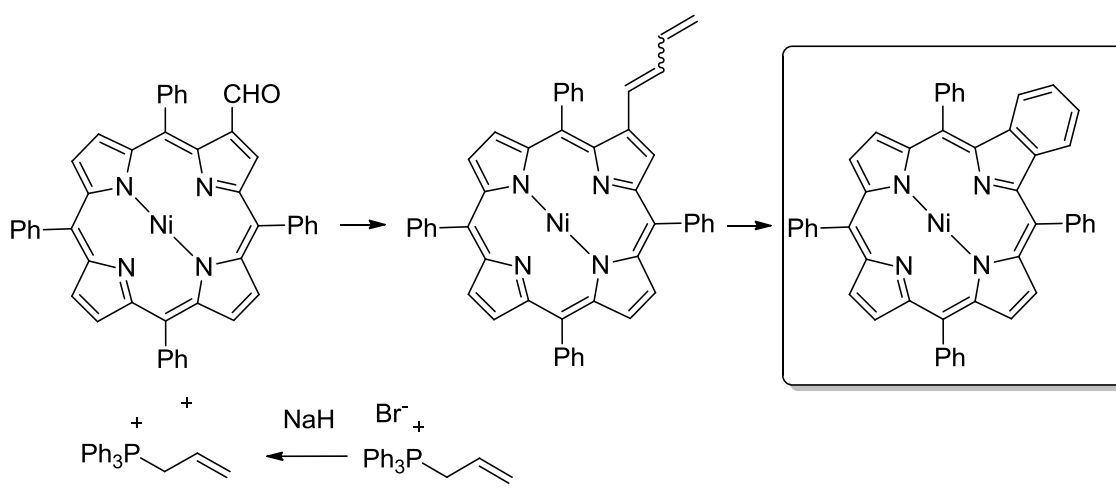


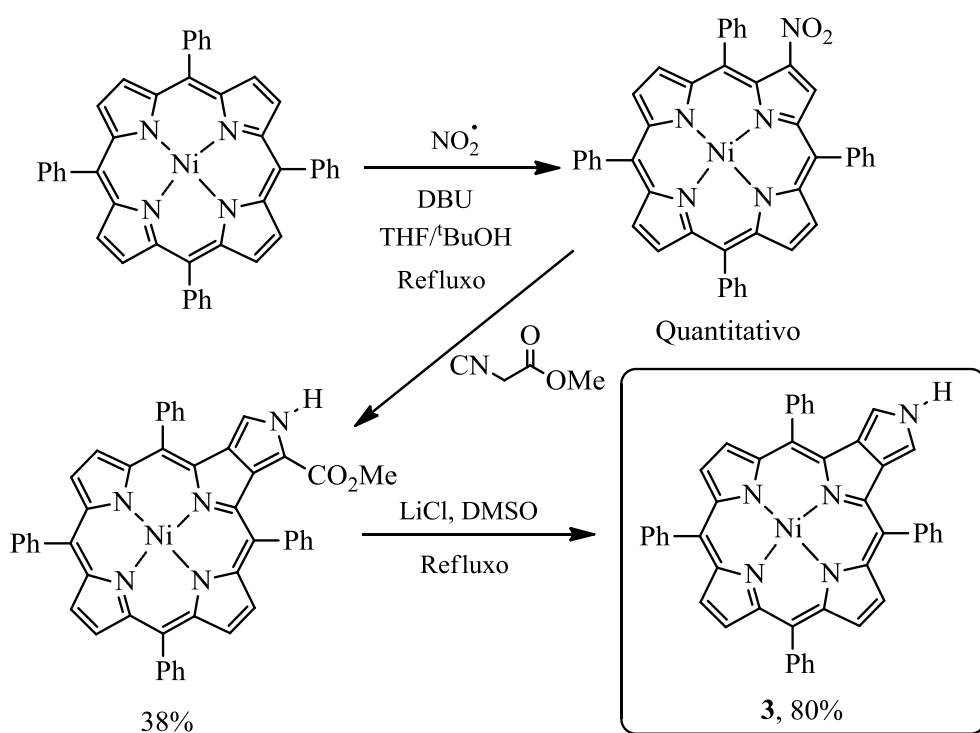
Figura 2.5. diBP-adj e diBP-opp sintetizadas por Smith e colaboradores.³⁹



Esquema 2.15.

Pirroloporfirinas como precursoras de monoBP

A publicação do primeiro processo sintético visando a obtenção de derivados porfirínicos contendo um anel pirrólico fundido em posição- β do macrociclo, remonta já aos anos 90 do século XX, e foi apresentado por Smith e colaboradores (Esquema 2.16).⁴¹

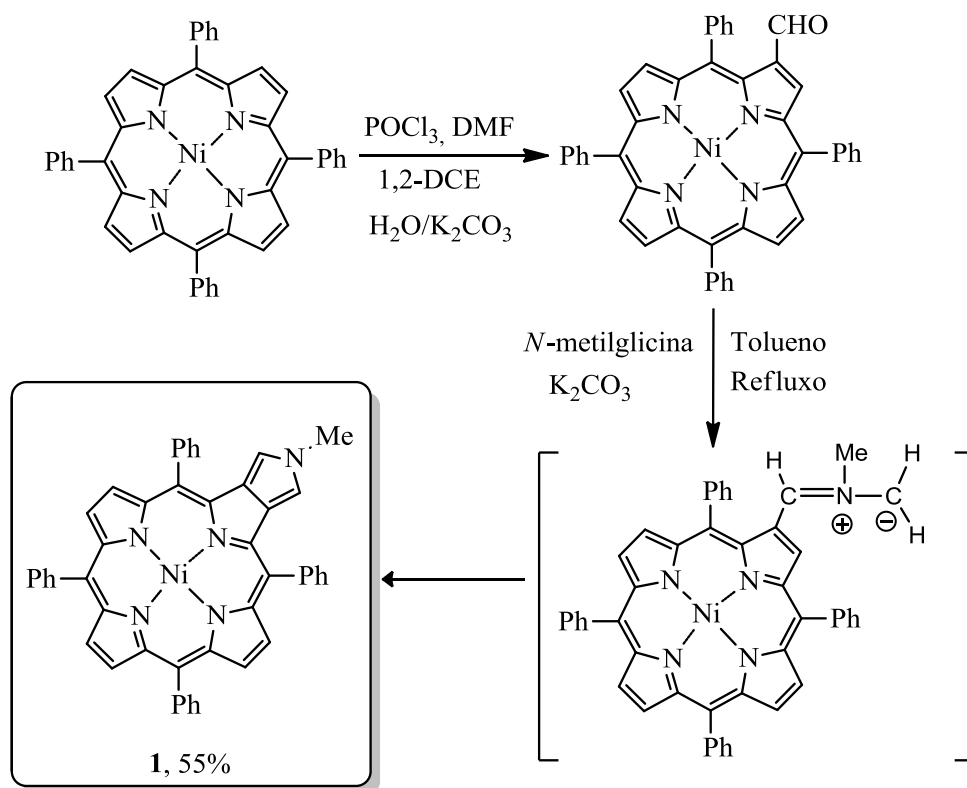


Esquema 2.16.

A síntese da pirroloporfirina **3** baseou-se na condensação de Barton-Zard de 2-nitro-5,10,15,20-tetrafenilporfirina com isociano-acetatos de alquilo. Após este primeiro passo reacional, o anel pirrólico, fundido nas posições β da porfirina, encontra-se substituído na sua posição 2 por um grupo éster. O derivado **3** foi obtido após remoção desse grupo com LiCl em DMSO a refluxo (Esquema 2.16.).⁴¹

Já no início do novo século, Cavaleiro e seus colaboradores⁴² sugeriram um método alternativo para a síntese de pirroloporfirinas (esquema 2.17.), que apresentou

como principal vantagem a economia de passos reacionais, permitindo que compostos deste género possam servir de plataforma para estudos posteriores.

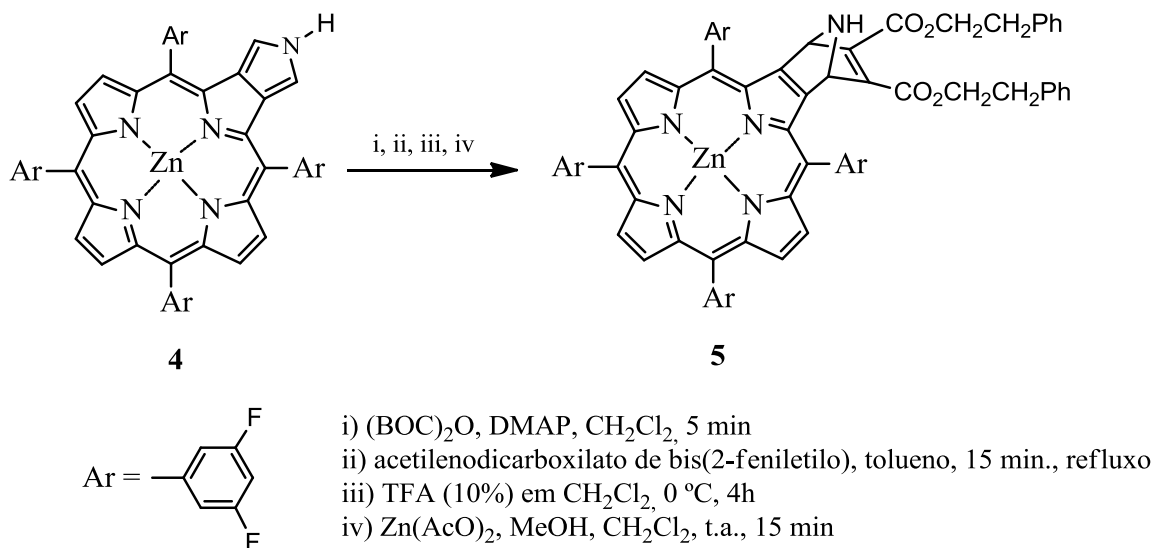


Esquema 2.17.

A metodologia sintética proposta envolveu a 1,5-electrociclização de iletos de azometino porfirínicos gerados a partir da reação entre o 2-formil-5,10,15,20-tetrafenilporfirinatóníquel(II) e a *N*-metilglicina, com obtenção da pirroloporfirina **1** (Esquema 2.17.).⁴²

Durante o tempo que decorre entre uma e outra proposta sintética, surgem na literatura os primeiros trabalhos visando a utilização da pirroloporfirina **3** como dieno em reações de Diels-Alder.

Knapp *et al.* foram os primeiros a reportar este tipo de metodologia.⁴³ No seu trabalho é descrita a ativação da pirroloporfirina **4** (Esquema 2.18.) com o grupo BOC e posterior reação com o acetilnodicarboxilato de bis(2-feniletilo), com obtenção do aducto **5** (Esquema 2.18.) com um rendimento global de 44%.⁴³

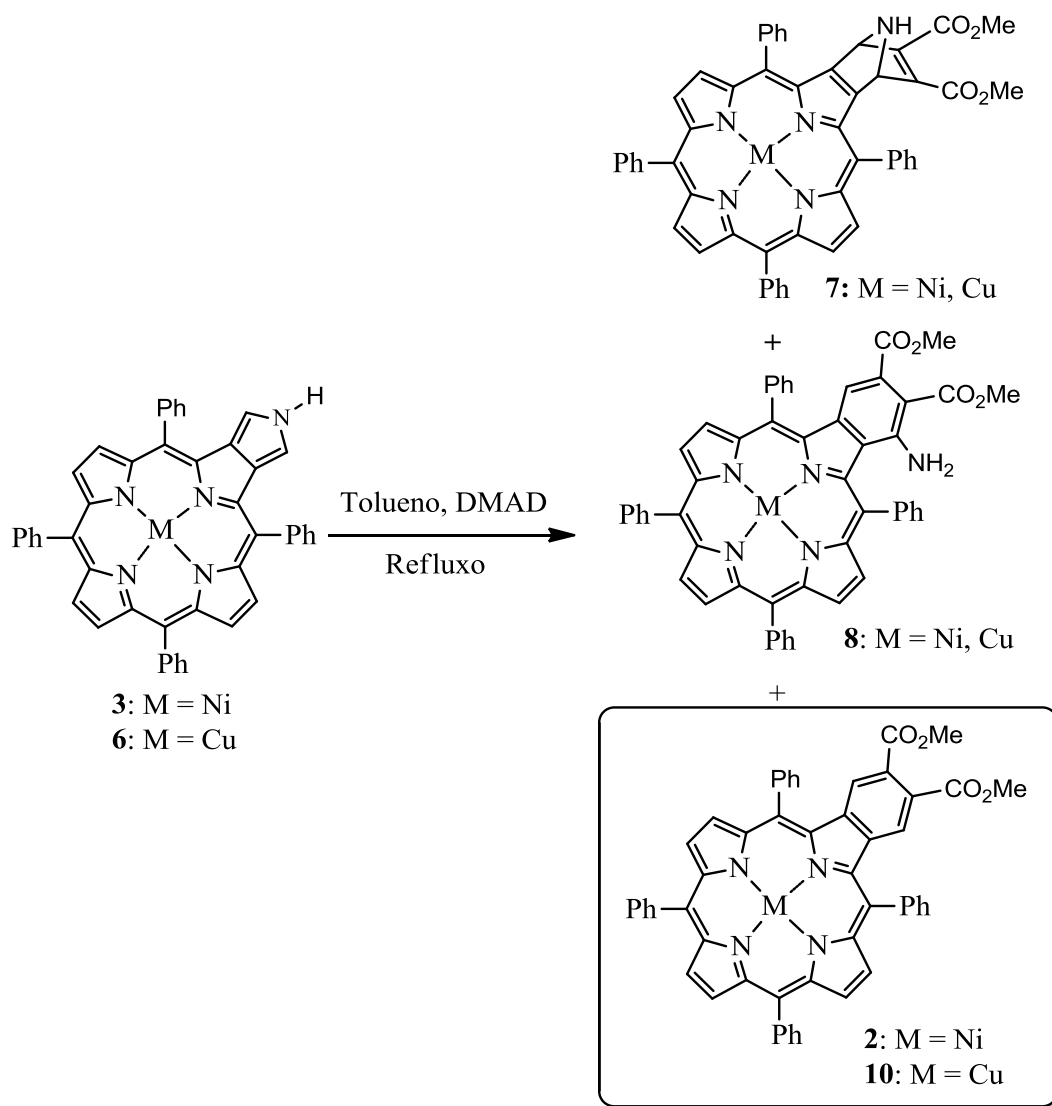


Esquema 2.18.

Um ano mais tarde, Smith *et al.* reportaram o trabalho desenvolvido com o objetivo de estender o estudo sobre reações de Diels-Alder em pirroloporfirinas, usando o DMAD como dienófilo (Esquema 2.19.).⁴⁴

Neste trabalho, os autores optaram por não fazer qualquer tipo de ativação do dieno **3** (ou **6**), tendo obtido o aducto **7** com um rendimento de 60-70%. O produto **7**, quando aquecido em tolueno a refluxo, durante um período entre 8-16 horas, é convertido nos derivados **8** e **9** (ou **10**).

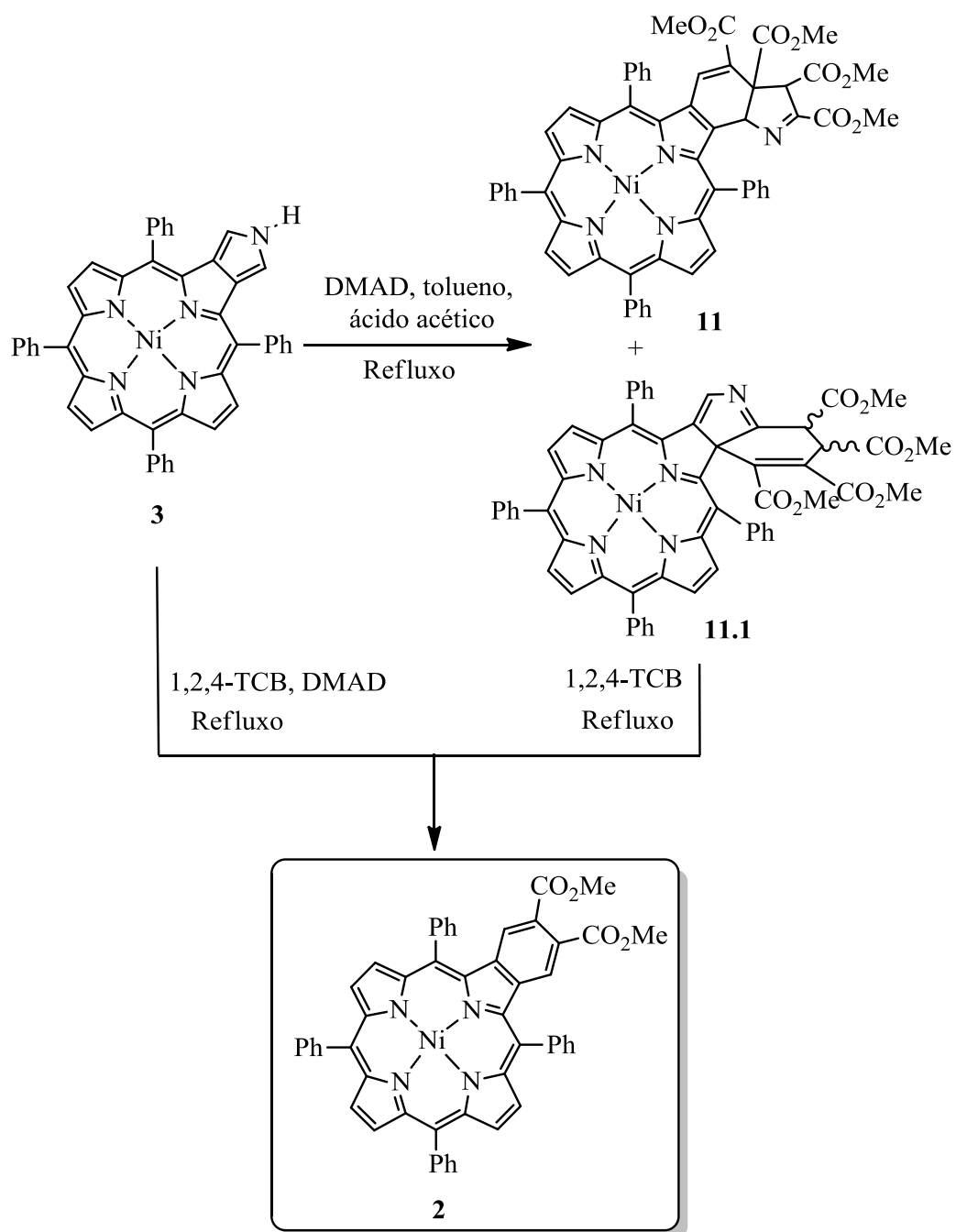
Se o tempo de aquecimento for estendido para além das 8-16 h, os únicos produtos obtidos são os derivados benzoporfirínicos **9** ou **10**.⁴⁴



Esquema 2.19.

Smith *et al.* referenciam também que o aumento da temperatura de reação, de 120 °C para 240 °C, induz uma alteração significativa nos produtos obtidos a partir do complexo de cobre **6**; é obtida a benzoporfirina **10** (55-80%) e um bis-aducto (20-45%) que após refluxo prolongado, em 1,2,4-triclorobenzeno (1,2,4-TCB), é convertido também no derivado **10**.⁴⁴

A estrutura e mecanismos das reações referentes a este novo bis-aducto formado só foram reportados seis anos mais tarde (Esquema 2.20.).⁴⁵



Esquema 2.20.

Em 2005, Smith *et al.* descrevem a formação e caracterização dos bis-aductos **11** e **11.1** (45% e 51%, respetivamente) (Esquema 2.20.), quando a pirroloporfirina **3** e DMAD são refluxados em tolueno na presença de ácido acético.⁴⁵

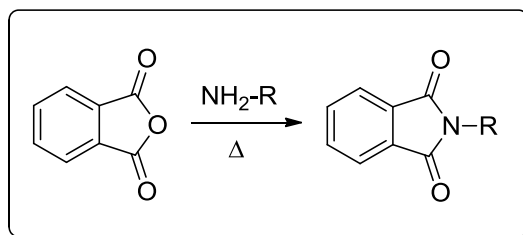
No trabalho de 1999, estes autores referiram também a formação de um bis-aducto a partir do complexo de cobre **6**, quando a mistura de dieno e DMAD é refluxada em 1,2,4-TCB.⁴⁴ Contudo, no trabalho de 2005 referem apenas a formação da benzoporfirina **2** (49 %), quando a mistura de dieno **5** e DMAD é refluxada em 1,2,4-TCB.

Em alternativa, o produto **2** pode também ser obtido por refluxo, em 1,2,4-TCB, dos bis-aductos **11** e **11.1**.⁴⁵

Este trabalho foi o último, até aos dias de hoje, a abordar o tema da obtenção de benzoporfirinas a partir de pirroloporfirinas.

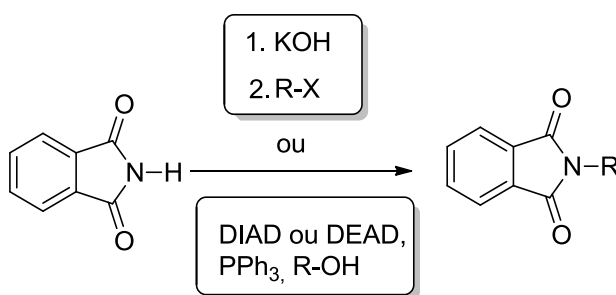
2.3. Ftalimidas e Análogos - Conceitos, Síntese e Aplicações

As ftalimidas (Esquema 2.21.) caracterizam-se por apresentar uma elevada estabilidade térmica e normalmente são preparadas a partir do anidrido ftálico, por aquecimento deste, a altas temperaturas, com a amina adequada.⁴⁶



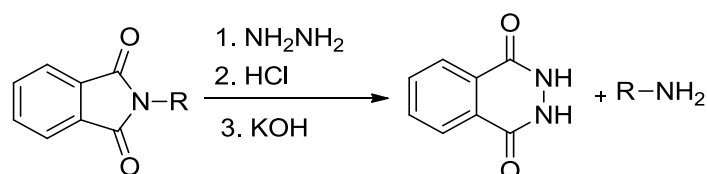
Esquema 2.21.

No entanto, quando a amina não está disponível sintética ou comercialmente, é possível tirar partido da reatividade da ftalimida não substituída (Esquema 2.22.), uma vez que esta apresenta uma acidez moderada. Neste contexto, é possível realizar a *N*-alquilação recorrendo a haletos de alquilo (Esquema 2.22.), naquela que é chamada síntese de Gabriel.⁴⁷ A *N*-alquilação de ftalimidas pode ainda ser conseguida recorrendo a álcoois, através da reação de Mitsunobu.⁴⁸



Esquema 2.22.

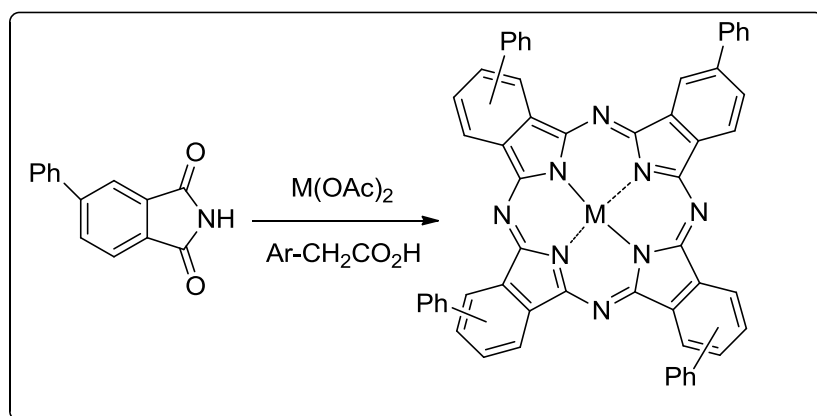
Os dois métodos anteriores podem encontrar aplicação não só como métodos de obtenção de novas ftalimidas, mas também como metodologias para a construção de novas aminas, sendo necessário um passo final de desproteção para que tal aconteça. Um dos métodos mais utilizados para atingir este objetivo tem o nome de síntese de Gabriel modificada, e consiste na utilização de hidrazida e HCl com obtenção das respectivas ftalidrazida e amina (Esquema 2.23.).⁴⁸



Esquema 2.23.

Em termos de aplicação, os compostos do tipo ftalimida, têm vindo a ser estudados em diferentes áreas nomeadamente medicina (*e.g.* agentes antitumorais⁴⁶ e antibacterianos⁴⁹) e eletrónica.⁵⁰

As ftalimidas podem também ser uma ferramenta de grande utilidade para a síntese de ftalocianinas com diferentes tipos de funcionalizações. A título de exemplo, apresenta-se no esquema 2.24. uma das metodologias reportadas na literatura que pressupõe a utilização de acetatos de metais de transição e ácidos arilacéticos para a síntese de ftalocianinas a partir de ftalimidas.⁵¹



Esquema 2.24.

Mais recentemente, alguns trabalhos têm também vindo a mostrar a importância da função ftalimida na derivatização e funcionalização de macrociclos, nomeadamente macrociclos porfirínicos.^{52,53}

Por exemplo, Nakazato *et al.* os autores mostraram que a presença de grupos ftalimida, em conjugados porfirina-ftalimida (Fig. 2.6.), é fundamental para a obtenção de microsferas de porfirinas.⁵²

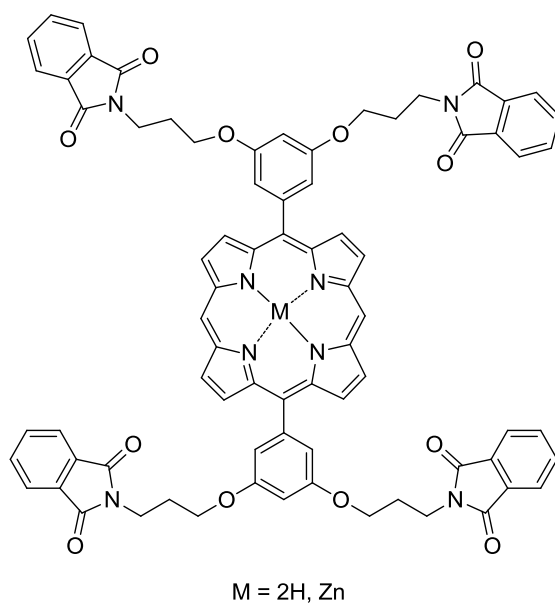
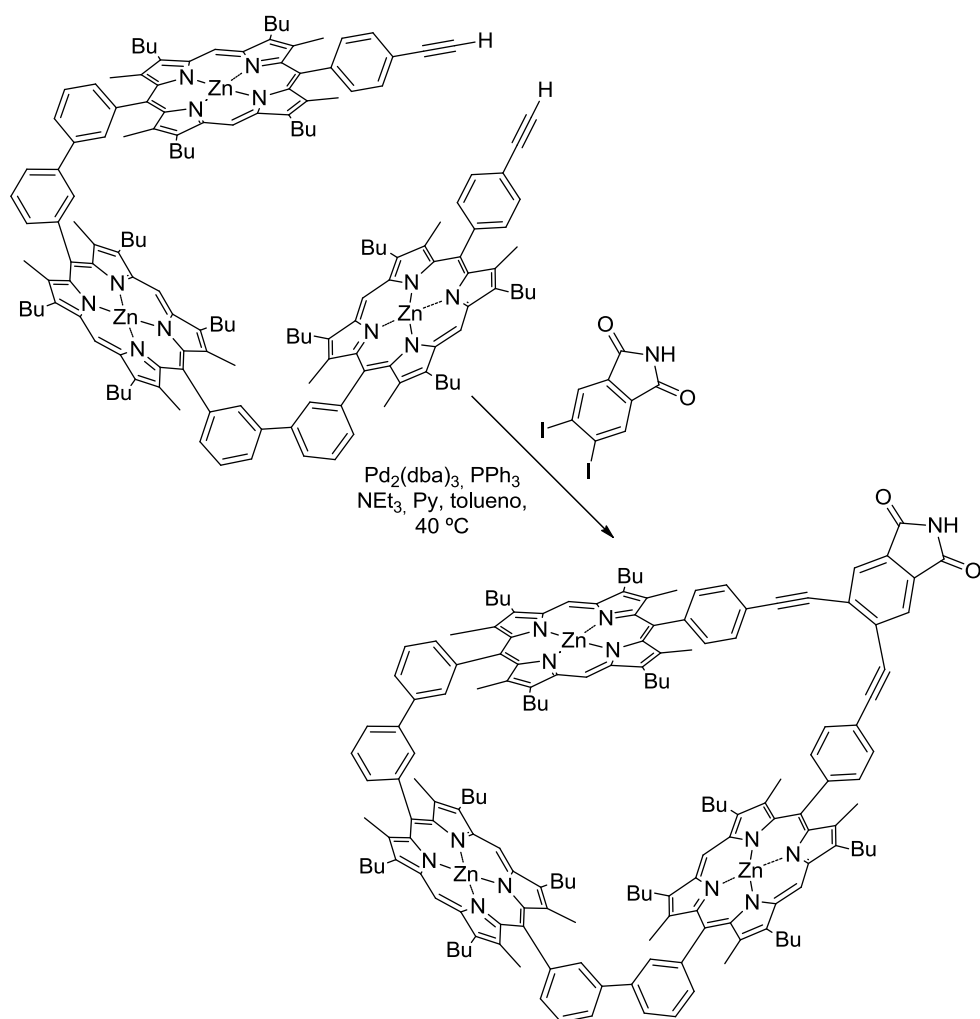


Figura 2.6. Conjugados porfirina-ftalimida obtidos por Nakazato *et al.*⁵²

Anderson e colaboradores mostraram também que uma ftalimida funcionalizada permitiu a obtenção de um trímero de porfirinas, usado posteriormente como recetor de fulereno C₆₀, ainda que a função ftalimida não assumisse aqui um papel de destaque (Esquema 2.25.).⁵³



Esquema 2.2.

2.4. Síntese de Novas Benzoporfirinas

A descoberta, por Cavaleiro *et al.*,⁴² de uma rota de síntese simplificada para a obtenção da pirroloporfirina **1** (esquema 2.17.) tornou este composto um aliciente foco de estudo para produção de novos derivados. Como tal, neste capítulo será descrito todo o trabalho experimental desenvolvido no sentido de explorar a reatividade do precursor **1** em reações de cicloadição de Diels-Alder, usando DMAD como dienófilo. O objetivo cimeiro deste estudo envolveu a obtenção de derivados do tipo monoBP funcionalizados com dois grupos éster adjacentes que permitam reações posteriores, nomeadamente a criação de um grupo anidrido para subseqüentes transformações com diferentes aminas funcionais.

Como a pirroloporfirina **3** foi já alvo de um estudo análogo torna-se bastante interessante do ponto de vista sintético comparar a reatividade de **1** e **3**, que diferem apenas na substituição do átomo de azoto do pirrol externo ao macrociclo.

Foi necessário preparar a porfirina **1**, que serviu de composto de partida para todo o trabalho experimental desta dissertação. Seguiu-se a rota sintética já explicitada no esquema 2.17. usando as condições reacionais anteriormente estudadas no grupo de investigação.⁴²

Posto isto, iniciaram-se os estudos de reatividade da pirroloporfirina **1** com DMAD, averiguando a potencialidade desta porfirina como precursora da monoBP **2** (Esquema 2.1.). Para isso começou-se por refluxar, em tolueno, uma mistura de **1** e DMAD (1 equiv.). Ao fim de 24 h observou-se a formação de um composto de cor vermelha escura, mais polar que o composto de partida, que se suspeitou ser a BP pretendida. Como o consumo da porfirina de partida não tinha sido total, adicionou-se mais 1 equiv. de dienófilo. Ao fim de 24 h observou-se, por TLC, o consumo total da pirroloporfirina **1**, mantendo-se como único produto da reação, o derivado de cor vermelha já observado no primeiro controlo de 24 h. Após evaporação do tolueno, o composto obtido foi purificado recorrendo a cromatografia em coluna de sílica, tendo-se usado inicialmente a uma mistura de éter de petróleo (EP)/CH₂Cl₂ para retirar algumas impurezas menos polares, que apareceram na reação em quantidades vestigiais, e por

fim CH_2Cl_2 para retirar o produto maioritário obtido. O composto, depois de precipitado em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EP}$, foi filtrado e seco sob vazio.

O espectro de massa da porfirina obtida revelou a existência de um ião molecular a um valor de m/z 1007, que não correspondia ao ião $[\text{M}]^{+\bullet}$ de valor m/z 836 da BP esperada. No espectro de RMN de ^1H (Fig. P2.1. do procedimento experimental) observaram-se, na zona aromática, apenas os sinais relativos à ressonância de vinte prótons fenílicos e de seis prótons β -pirrólicos. Para além destes sinais, observaram-se mais sete sinais na forma de singlete. O singlete a δ 1,98 ppm, com uma integração correspondente a três prótons, sugeriu a existência do grupo N-CH_3 presente na pirroloporfirina de partida. Os quatro singletos a δ 3,64, 3,70, 3,76, 3,82 ppm, cada sinal com uma integração correspondente a três prótons, sugeriram a reação com duas moléculas de DMAD.

Estes dados levaram-nos a colocar a hipótese de estarmos perante um aducto semelhante aos derivados **11** ou **11.1** referidos por Smith (Esquema 2.20.). Os mecanismos prováveis de formação destes compostos, tendo por base os sugeridos por Smith e colaboradores,⁴⁵ são apresentados nos esquemas 26 e 27. Como podemos observar nesses esquemas, a formação do composto **12** (Esquema 2.26.) envolveria primeiro a cicloadição de Diels-Alder entre o dieno porfirínico e o DMAD, seguida de uma adição de Michael a uma segunda molécula de DMAD.

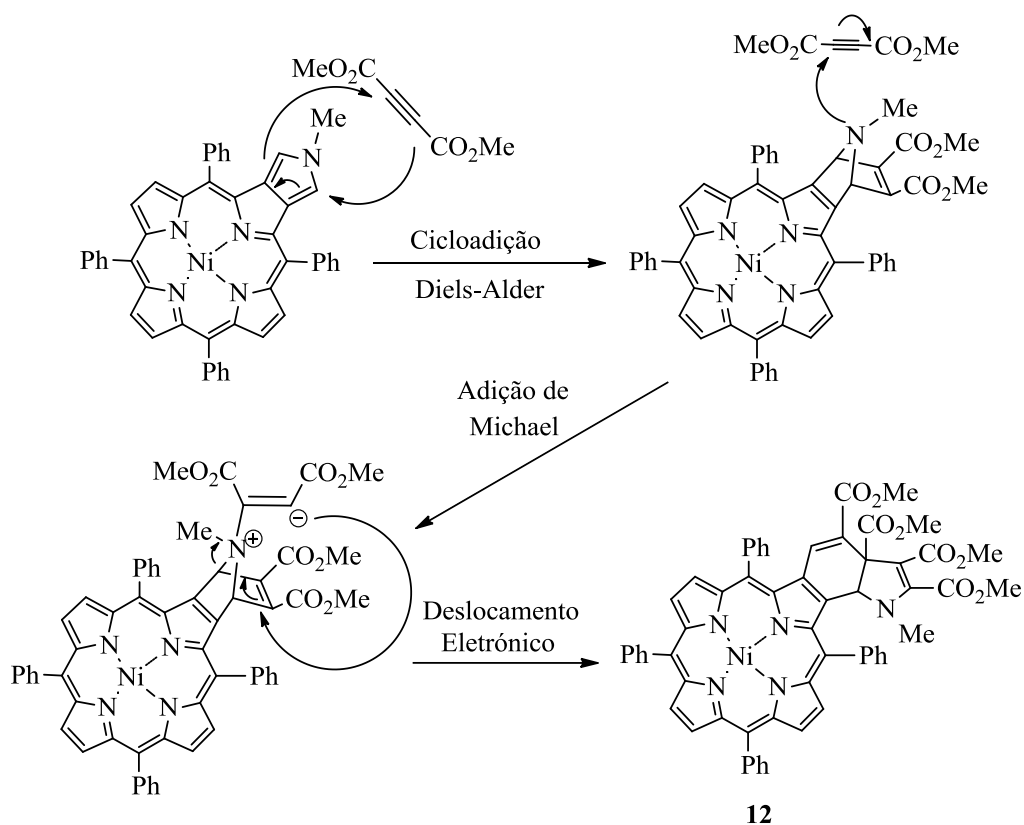
Por outro lado, na formação do composto **13** (Esquema 2.27.), ocorreria primeiro a adição de Michael a uma molécula de DMAD, seguida de uma cicloadição de Diels-Alder entre o dieno porfirínico formado e uma segunda molécula de DMAD.

De notar que os dois isómeros possíveis deveriam apresentar um ião molecular $[\text{M}]^{+\bullet}$ a m/z 1007.

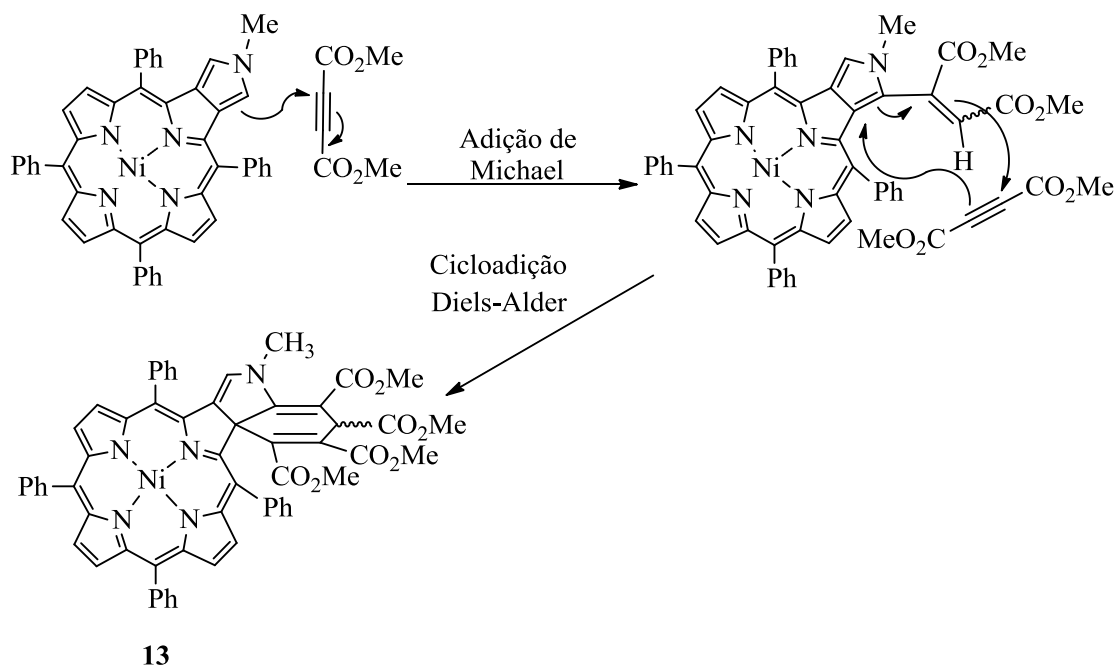
No espectro de RMN de ^1H (Fig. P2.1. do procedimento experimental) observaram-se ainda os sinais a δ 5,39 e a 7,21 ppm, ambos na forma de singlete e com uma integração correspondente a um próton cada um.

Para facilitar a discussão dos estudos de RMN que permitiram a atribuição da estrutura correta ao composto vermelho isolado, apresentam-se na figura 2.7. as estruturas **12** e **13** com os prótons devidamente assinalados.

Benzoporfirinas – Síntese e Reatividade



Esquema 2.26.



Esquema 2.27.

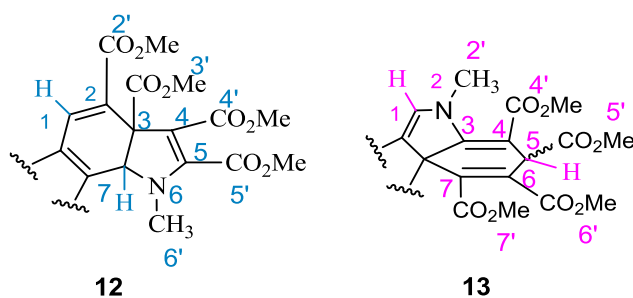


Figura 2.7. Estruturas parciais numeradas dos isómeros **12** e **13**.

Na análise começou-se por considerar as correlações que o singlete a δ 7,21 ppm, atribuído em ambas as estruturas ao protão H1, apresentou no espectro de HMBC (Fig. 2.8.). O assinalamento desse sinal teve em conta o facto de este protão estar ligado a um carbono que surge a δ 133,2 ppm (Fig. P2.3. do procedimento experimental), desvio químico típico de um carbono de uma dupla ligação.

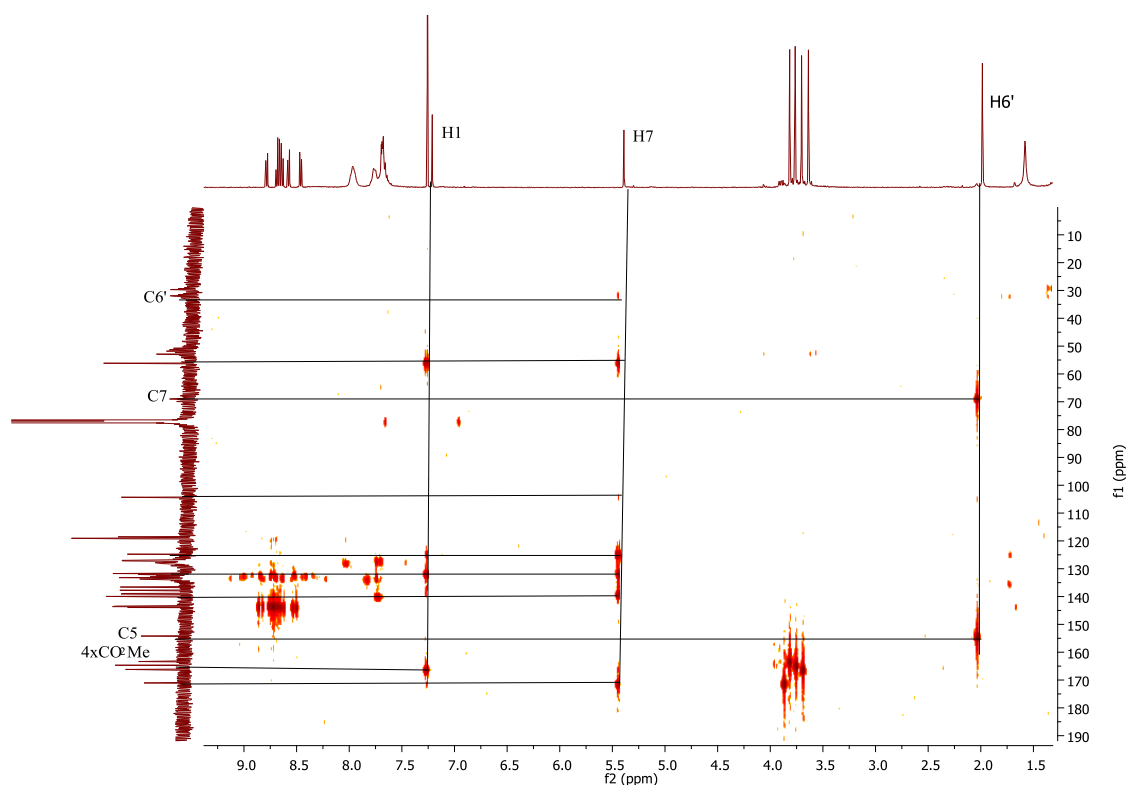


Figura 2.8. Espectro de HMBC do composto **12**.

Verificou-se que H1 apresentou uma correlação com um carbono a δ 164,7 ppm, desvio químico característico de um grupo éster, que neste caso corresponderá à ressonância de C2'. Este dado constituiu a prova de que a porfirina obtida corresponde ao composto com a estrutura **12**.

De salientar que o derivado **12** foi obtido em rendimento quantitativo. Como veremos a seguir, este composto tornou-se ponto de partida para outras transformações, pelo que se testaram algumas condições para rentabilizar a produção do composto. Por um lado, fez-se um aumento da escala da reação aumentando progressivamente a quantidade de pirroloporfirina de partida usada de 20,0 mg para 500,0 mg. Por outro lado, aumentou-se também a quantidade de DMAD inicialmente usada de 1 equiv. até ~6 equiv.. A conjugação das duas condições permitiu continuar a obter o derivado **12** em rendimento quantitativo.

De notar que, antes de os estudos terem prosseguido, o composto **12** foi descomplexado por tratamento com uma mistura $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ 9:1, à temperatura ambiente durante 5 minutos. Ao fim deste tempo, não se observou por TLC a existência de qualquer composto de partida, tendo-se formado um novo produto, com um R_f bastante próximo do seu precursor, indicando, por isso, a obtenção do respetivo derivado descomplexado. A mistura foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de Na_2CO_3 e extraída com CH_2Cl_2 . O produto foi purificado por TLC preparativa, usando $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (5%) como eluente.

A descomplexação do composto **12**, com formação do composto **12a**, foi comprovada por EM, tendo-se observado o pico do ião molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ a um valor m/z 952. Também no espectro de RMN de ^1H (Fig. P2.4. do procedimento experimental) se observou o sinal a δ -2,43 ppm, indicativo da presença dos prótons NH internos do macrociclo.

Uma vez estabelecida a estrutura **12** como sendo a do produto obtido da reação da pirroloporfirina **1** com DMAD, e estudadas as condições para obter este composto em quantidades satisfatórias, delinearam-se duas estratégias para a obtenção da BP **2**:

- *Estratégia 1* - aquecimento do derivado **12** em refluxo de 1,2,4-TCB,
- *Estratégia 2* - reação da pirroloporfirina **1** com DMAD em 1,2,4-TCB a refluxo.

Com o objetivo de colocar em prática a estratégia 1, refluxou-se uma solução de composto **12** em 1,2,4-TCB, tendo-se observado ao fim de 24h a formação de um novo composto de cor vermelha, menos polar do que o seu precursor, que foi identificado como sendo a BP pretendida. A reação foi prolongada por mais 24h a refluxo, tempo ao fim do qual já não se observou, por TLC, a existência de composto de partida. Após arrefecimento, até à temperatura ambiente, a mistura reacional foi submetida a cromatografia em coluna de sílica, tendo-se utilizado, inicialmente, EP para retirar o 1,2,4-TCB usado como solvente da reação, seguidamente CH₂Cl₂ para retirar a fração maioritária e por fim CH₂Cl₂/MeOH 9,5:0,5 para retirar uma mistura de frações minoritárias, com R_f próximos do R_f do composto de partida.

Foram feitas várias tentativas no sentido de isolar e caracterizar as frações minoritárias mais polares, contudo sem sucesso.

A identificação da fração maioritária foi feita tendo por base os espectros de massa e de RMN de ¹H.

O espectro de massa apresentou o pico do ião molecular com um valor *m/z* 836, concordante com a massa do composto **2**.

O espectro de RMN de ¹H (Fig. P2.6. do procedimento experimental) apresentou, para além dos sinais correspondentes à ressonância dos prótons β-pirrólicos e dos prótons fenílicos, mais dois sinais na forma de singlete a δ 3,87 e 7,39 ppm. O sinal a δ 3,87 ppm, com uma integração correspondente a seis prótons foi atribuído à ressonância dos prótons metílicos dos dois grupos éster e o sinal a δ 7,39 ppm, com uma integração correspondente a dois prótons, foi atribuído aos prótons do grupo benzénico fundido nas posições β-pirrólicas.

Os resultados anteriores mostraram que a estratégia 1 permite obter a BP **2**, com um rendimento de 53% a partir do intermediário **12**. Neste caso são necessários dois passos reacionais para obter o composto **2**.

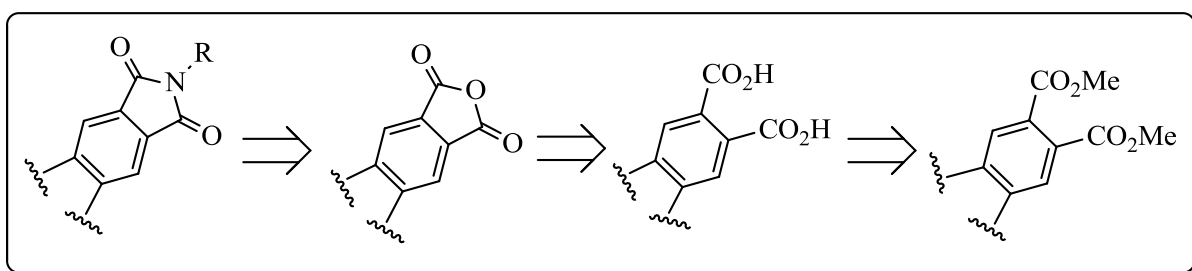
Numa tentativa de obter o mesmo derivado apenas num passo reacional, colocou-se em prática a estratégia 2, refluxando-se a pirroloporfirina **1** com DMAD (1 equiv.). Uma hora após o início da reação, verificou-se por TLC, que toda a porfirina de partida havia sido consumida e que se tinha formado o intermediário **12**. Contudo, ao contrário do verificado na reação em tolueno a refluxo, outros produtos secundários se formaram. A mistura reacional, foi deixada a refluxar por mais 48 horas, tempo ao fim do qual se verificou total consumo do derivado **12**, com formação da BP **2** e de outros produtos com R_f bastante próximo desta. Foi necessário recorrer a TLC preparativa para isolar a BP pretendida, tendo esta sido obtida com um rendimento de 6 %.

Em suma, ficou claramente demonstrado que a estratégia 1 foi a mais eficiente na produção da BP **2**.

Antes de avançar, decidiu-se conduzir a descomplexação da BP sintetizada, dado que não havia ainda sido descrito na literatura. Para isso, tratou-se o derivado **2** com uma mistura $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ 9:1, à temperatura ambiente durante 5 minutos. Ao fim deste tempo, verificou-se por TLC a inexistência de composto de partida e a formação de um novo produto, com um R_f bastante próximo do seu precursor, indicando, por isso, a obtenção do respetivo derivado descomplexado. A mistura foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de Na_2CO_3 e extraída com CH_2Cl_2 . O produto foi purificado por TLC preparativa, usando CH_2Cl_2 como eluente.

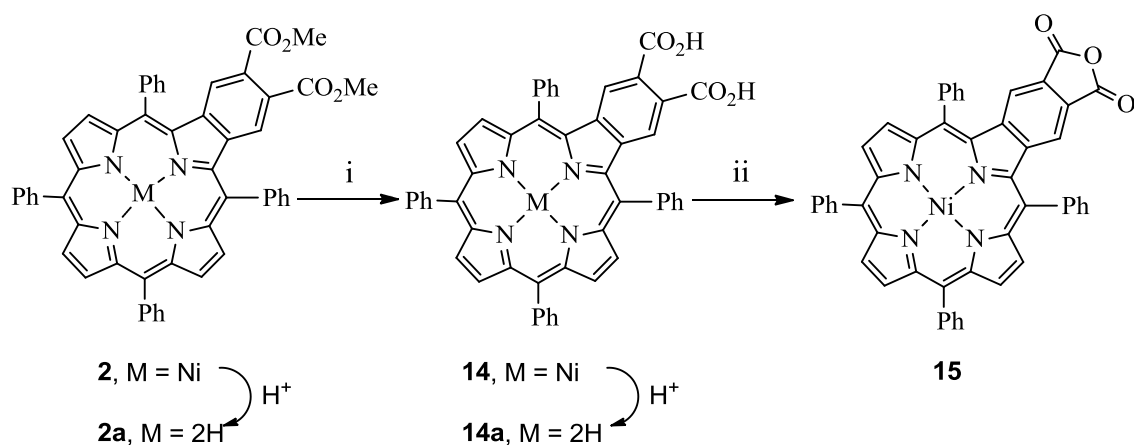
O espectro de massa apresentou um pico com um valor m/z 781 correspondente ao ião molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ e o espectro de RMN de ^1H um sinal a δ -2,67 ppm (Fig. P2.7. do procedimento experimental) característico da ressonância dos prótons NH internos do macrociclo porfirínico, dados que estavam em perfeita conformidade com a obtenção do produto **2a** (Esquema 2.29.).

Como já foi referido, a BP **2** foi preparada em rendimento satisfatório e, por isso, considerou-se a possibilidade de a utilizar como precursora de novos derivados porfínicos contendo diferentes unidades de ftalimida fundidas nas posições β -pirrólicas. Para isso idealizou-se a rota sintética via anidrido explicitada no esquema 2.28., inspirada em rotas de síntese largamente conhecidas para obtenção de ftalimidas.⁵⁴



Esquema 2.28.

Começou-se por hidrolisar os grupos éster do composto **2**. Para isso seguiu-se um procedimento, já descrito na literatura,⁵⁵ que envolveu a adição de uma solução de KOH em MeOH a uma solução do diéster **2** em THF/piridina (Py). Esta mistura foi refluxada durante 48 horas, tempo ao fim do qual se observou, por TLC, a conversão total do diéster de partida num composto de cor vermelha mais polar. Após arrefecimento até à temperatura ambiente, a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa de ácido cítrico e extraída com CH₂Cl₂. Após evaporação, a pressão reduzida, o resíduo foi cromatografado numa coluna de sílica usando, inicialmente, CH₂Cl₂ como eluente para retirar frações menos polares que aparecem em quantidades vestigiais e seguidamente uma mistura de CH₂Cl₂/MeOH (9,5:0,5) para eluir a fração maioritária mais polar. O composto foi precipitado em CH₂Cl₂/EP, filtrado e seco sob vácuo.



- i) KOH, MeOH/THF/Py, Δ
 ii) 1,2,4-TCB, peneiros moleculares, Δ

Esquema 2.29.

O espectro de massa do novo derivado apresentou um pico do ião molecular $[M]^{+}$ a um valor de m/z 808, concordante com a hidrólise dos dois grupos éster (Esquema 2.29.) e por isso com a obtenção do ácido ftálico **14**.

No espectro de RMN de ^1H (Fig. P2.9. do procedimento experimental), verificou-se o desaparecimento do singlete a δ 3,87 ppm, correspondente à ressonância dos seis prótons metílicos, mas mantiveram-se os sinais do grupo benzénico a δ 7,39 ppm e os sinais dos restantes prótons β -pirrólicos e dos quatro grupos fenilo.

O ácido ftálico **14** foi obtido a partir do respetivo diéster com um rendimento de 90%.

Utilizando o procedimento já descrito para a BP **2**, procedeu-se também à descomplexação do diácido **14** com obtenção do produto **14a** em rendimento quantitativo. A confirmação da presença do ácido ftálico **14a** foi feita recorrendo ao espectro de massa onde se observou o ião molecular $[M+H]^+$ a um valor de m/z 753. Também o espectro de RMN de ^1H (Fig. P2.11. do procedimento experimental) apresentou um sinal a δ -2,77 ppm, que confirmou a ausência do metal, tendo-se mantido os restantes sinais já descritos para o precursor **14**.

Para promover a formação do anidrido ftálico **15** (Esquema 2.29.), começou-se por testar condições típicas de síntese de anidridos ftálicos a partir dos respetivos precursores di-ácidos, nomeadamente o uso de anidrido acético.⁵⁴ Para isso, refluxou-se durante 1 hora, uma solução de porfirina **14** em anidrido acético. Ao fim deste tempo, observou-se, na TLC da mistura reacional, a conversão total do composto de partida num novo produto de cor verde-escuro menos polar. A reação foi terminada por evaporação a pressão reduzida do anidrido acético. Tentou-se proceder à purificação do produto obtido, cromatografando a mistura reacional numa coluna de sílica e usando CH₂Cl₂ como eluente. No entanto, observou-se que grande parte do produto obtido se convertia no composto de partida, minutos após aplicação da mistura reacional na sílica. O produto obtido também não mostrou ser estável quando mantido em solução de CH₂Cl₂ ou de CHCl₃. Para minorar este problema, o produto foi precipitado imediatamente, após evaporação do anidrido acético, em CH₂Cl₂/MeOH, filtrado e seco sob vácuo, sendo obtido na forma de um sólido verde-escuro.

O espectro de massa do derivado obtido revelou um pico de íão molecular [M]⁺⁺ a um valor de m/z 790, o que estava em conformidade com a perda de uma molécula de H₂O resultante da conversão do ácido ftálico **14** no anidrido **15**.

O espectro de RMN de ¹H do produto (Fig. P2.13. do procedimento experimental) era bastante simples; resumiu-se a um singleto a δ 7,57 ppm correspondente à ressonância dos prótons do grupo benzénico fundido nas posições β -pirrólicas e mais dois multipletos na zona aromática correspondentes à ressonância dos prótons fenílicos e dos prótons β -pirrólicos. Este espectro é semelhante ao espectro do diácido **14**, contudo o diácido apenas se conseguiu solubilizar em DMSO-d₆, enquanto que o anidrido **15** é solúvel em CDCl₃. O espectro de massa, está de acordo com a identidade estrutural do anidrido **15**, o qual foi obtido quantitativamente a partir do seu precursor.

Uma vez testada e provada a possibilidade de obter, com sucesso, o anidrido porfirínico a partir do seu precursor diácido, pensou-se que seria importante estudar um método que permitisse obter o mesmo derivado quantitativamente sem recurso ao anidrido acético. A utilização de anidrido acético implica a sua evaporação, e a do ácido acético formado, a pressão reduzida e na maior parte das vezes coevaporação com tolueno durante longos períodos de tempo. No entanto, a remoção total destes dois

compostos nem sempre foi alcançada. Apenas durante o processo de precipitação com $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ se conseguiu uma remoção total do anidrido e ácido acético. Contudo, verificou-se que, durante o processo de precipitação e filtração do anidrido ftálico **15**, este rapidamente se converte no composto de partida e nem sempre se obteve o produto em rendimento quantitativo. Também se verificou que o processo não foi reprodutível, sendo necessário um controlo elevado do grau de secura dos solventes utilizados, o que mesmo assim, nem sempre garantiu a eficácia da metodologia.

Mais ainda, numa primeira abordagem da possível reação do anidrido ftálico sintetizado com diaminas aromáticas, observaram-se evidências espectroscópicas da acetilação dos grupos amino. Por todos estes motivos, decidiu-se explorar uma estratégia que excluísse a utilização de anidrido acético e que, em simultâneo, permitisse gerar o anidrido **15** *in situ*, por forma a poder prosseguir para a reação seguinte.

Tendo este objetivo em mente, começou-se por escolher o 1,2,4-TCB, como solvente da reação, pois permitiu solubilizar a porfirina **14** e atingir altas temperaturas nas reações seguintes. Idealizou-se também adicionar peneiros moleculares à mistura reacional os quais assegurariam a remoção de moléculas de água formadas durante o processo de síntese do anidrido. Assim, uma solução de ácido ftálico **14** em 1,2,4-TCB, à qual se adicionaram previamente peneiros moleculares, foi aquecida a refluxo. Ao fim de 1 hora, verificou-se que a cor da mistura reacional tinha sofrido uma alteração da sua cor inicial vermelha para verde-escuro, indicando a formação do derivado **15**. Este facto foi verificado e validado por TLC da mistura reacional que confirmou que todo o composto de partida havia sido convertido no produto **15**.

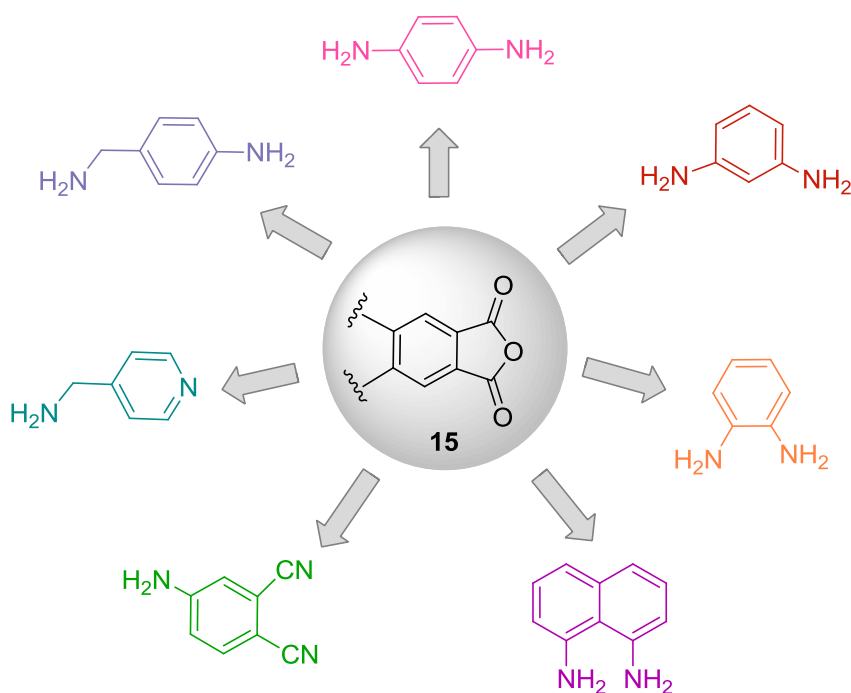
Após esta experiência, e sabendo que era possível gerar o anidrido ftálico *in situ*, sem recorrer a solventes/reagentes que poderiam influenciar as reações posteriores, decidiu-se estudar a reatividade deste novo anidrido ftálico com diferentes aminas.

2.4.1. Reação do anidrido ftálico **15 com arilaminas**

Nesta secção serão descritos os resultados obtidos nas reações do anidrido benzoporfirínico **15** com diferentes tipos de aminas. Para facilitar a discussão serão apresentados em separado os estudos efetuados com arilaminas simples e com arilaminas mais complexas, nomeadamente macrocíclicas.

2.4.1.1. Arilaminas simples

No esquema 2.30. estão apresentadas as estruturas das aminas seleccionadas para a preparação de novas ftalimidas porfirínicas.



Esquema 2.30.

A estratégia sintética geral usada foi idêntica para todas as aminas utilizadas. O intuito foi utilizar condições reacionais que pudessem ser aplicadas a todos os casos, permitindo a comparação de resultados.

Como tal, optou-se por se iniciar o processo reacional com a geração *in situ* do anidrido **15**, refluxando uma solução de porfirina **14** em 1,2,4-TCB e fazendo uso de peneiros moleculares. Ao fim de 1 hora, tempo ao fim do qual se verificou a conversão completa do ácido ftálico **14** no respetivo anidrido ftálico, a mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, adicionando-se então uma solução da amina pretendida em piridina.

A mistura anterior foi aquecida, a 220 °C num tubo selado, até que se verificasse, por TLC, que toda a porfirina de partida havia sido consumida. Os tempos de reação variaram consoante as aminas utilizadas.

Quando a reação foi dada por terminada, a mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, neutralizada com uma solução saturada de ácido cítrico e extraída com CH₂Cl₂. Após evaporação, a pressão reduzida, o resíduo foi cromatografado numa coluna de sílica usando como eluente, inicialmente, EP para retirar o 1,2,4-TCB, e seguidamente uma mistura de CH₂Cl₂ para eluir o(s) produto(s) das diversas reações.

A seleção da piridina como solvente das aminas utilizadas merece, no entanto, alguns comentários.

Na realidade, as primeiras experiências efetuadas foram conduzidas por adição direta da amina à solução de anidrido porfirínico. Contudo, a baixa solubilidade das aminas utilizadas acarretou tempos de reação extremamente elevados (dias), que conduziam a uma elevada taxa de degradação, quer da unidade porfirínica, quer da amina. As misturas obtidas traduziam-se em resíduos reacionais de cor negra, cujas impurezas eram de difícil separação, levando a resultados pouco reprodutíveis.

Assim, a solução que pareceu mais viável para a resolução do problema, que nestas circunstâncias tornavam o método impraticável, passava pela escolha de um solvente adicional que conjuntamente com o 1,2,4-TCB mantivesse qualquer uma das aminas em solução. Outra dificuldade que se levantou, prendeu-se com a questão do ponto de ebulição do solvente complementar, uma vez que seria conveniente a escolha de um solvente que permitisse usar temperaturas que poderiam ir até ao refluxo de 1,2,4-TCB (~214 °C). Tendo em conta todos os requisitos anteriores, a escolha recaiu sobre a piridina; é um solvente polar que permite a solubilização de todas as aminas selecionadas, é um solvente estável a temperaturas elevadas e pode ser facilmente seco minimizando a presença de água na mistura reacional. Adicionalmente, pelas suas

propriedades básicas, a piridina ajudaria a manter a amina desprotonada, promovendo a reação pretendida.

Reação com a 4-aminobenzilamina

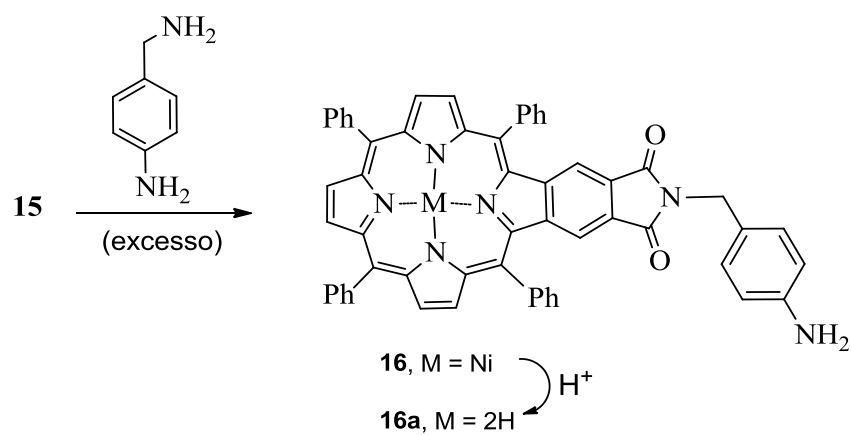
A primeira reação do anidrido ftálico **15** com aminas foi levada a cabo usando a 4-aminobenzilamina, que foi escolhida por duas razões principais:

- há possibilidade de formação de um novo derivado do tipo ftalimida com um grupo amino livre, que poderá servir de rampa para a síntese de novos derivados com diferentes funcionalidades,
- usando um único reagente é possível avaliar a reatividade preliminar de anidridos ftálicos porfirínicos com arilaminas e benzilaminas, de modo a estabelecer uma relação.

Os estudos foram realizados fazendo reagir um excesso de 4-aminobenzilamina com o anidrido ftálico **15**, tendo-se observado por TLC que, ao fim de 3 horas de reação, toda a porfirina de partida tinha sido consumida com formação de um único produto.

O espectro de massa do composto obtido apresentou um pico de íão molecular $[M]^{+•}$ a um valor de m/z 894, que estava em conformidade com a reação de uma molécula de diamina com a porfirina de partida. Para confirmar se, como esperado, a reação com o anidrido **15** tinha ocorrido no grupo benzilamino (Esquema 2.31.) analisaram-se pormenorizadamente os espectros de RMN de 1H e de ^{13}C , de uma e duas dimensões (Fig. 2.9. e 2.10.).

No espectro de RMN de 1H (Fig. P2.15. do procedimento experimental), para além dos sinais já observados no precursor, foi possível verificar a existência de mais três novos sinais; um sinal na forma de singleto δ 4,70 ppm, com uma integração correspondente a dois prótons e dois sinais na forma de duplete a δ 6,65 e 7,29 ppm, cada sinal com uma integração correspondente a dois prótons. Os únicos prótons não aromáticos da molécula eram os prótons a δ 4,70 ppm, pelo que este sinal correspondia à ressonância dos dois prótons benzílicos (H_2^4) (Fig. 2.9.).



Esquema 2.31.

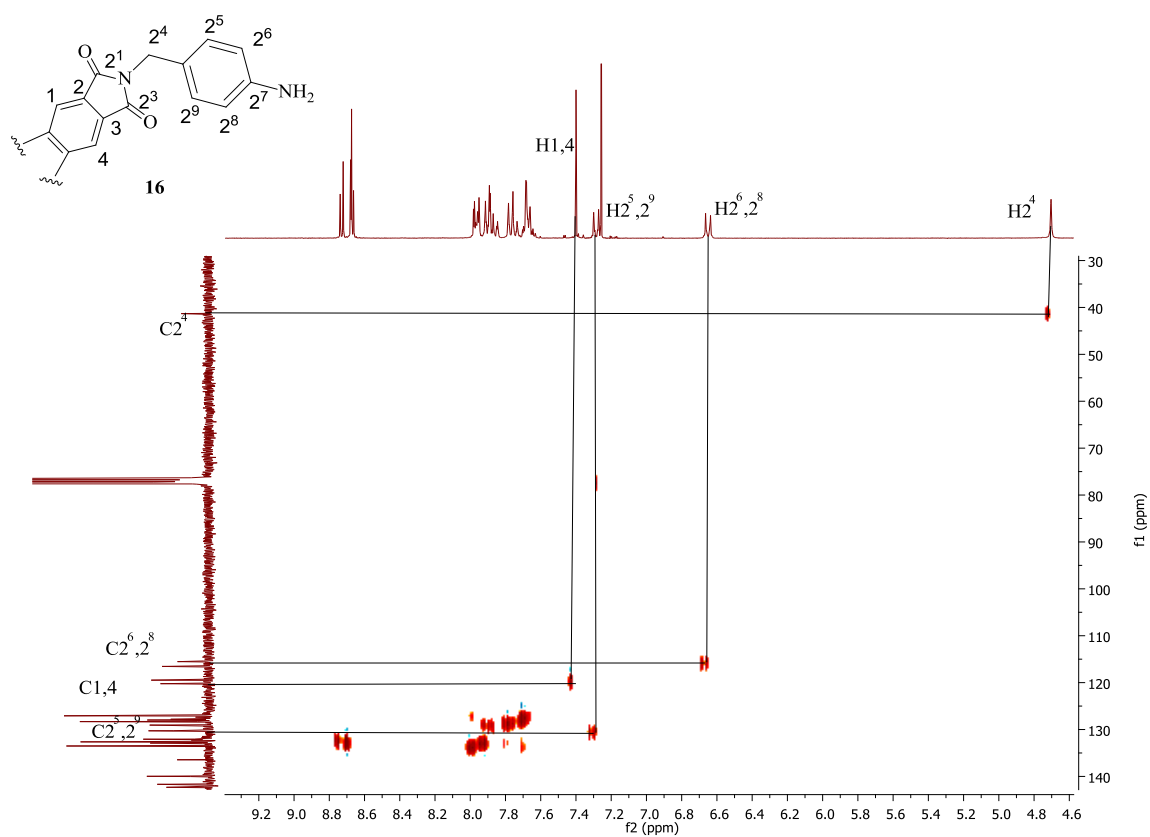


Figura 2.9. Espectro de HSQC da ftalimida porfirínica **16**.

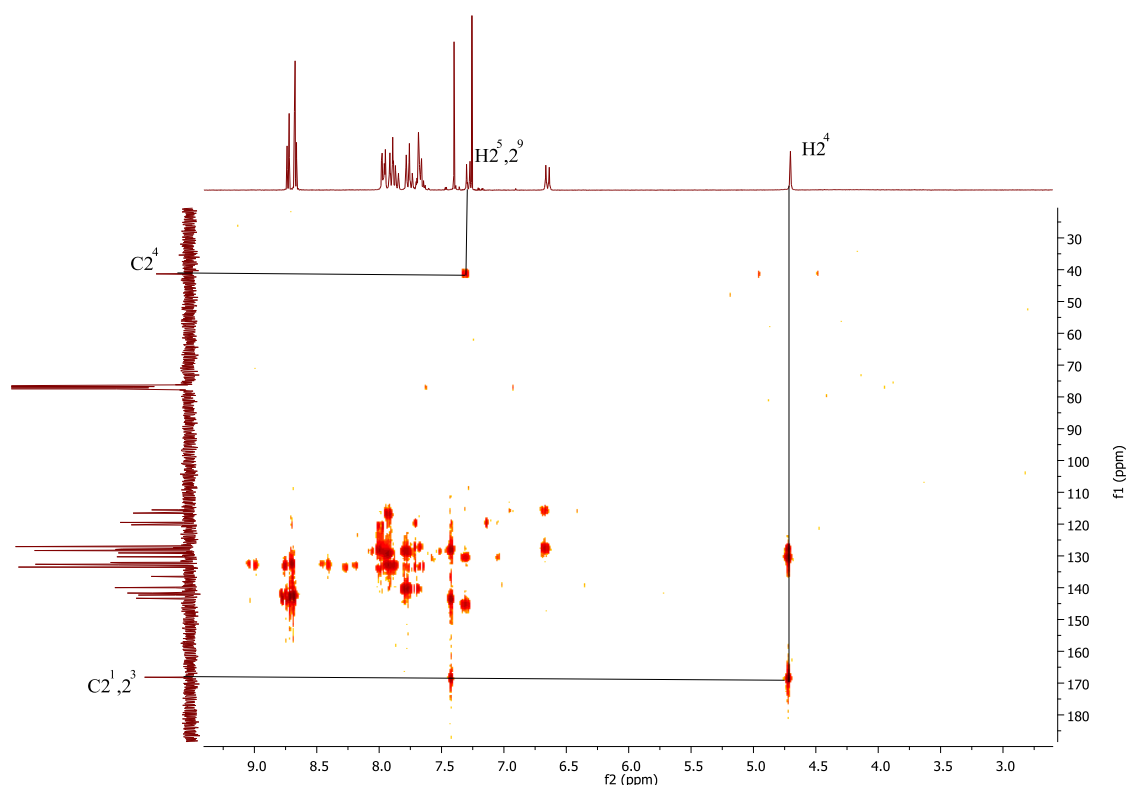


Figura 2.10. Espectro de HMBC da ftalimida porfirínica **16**.

Foi a partir deste sinal que foi possível a identificação inequívoca dos restantes prótons do resíduo de benzilamina, bem como a comprovação de que a reação ocorreu na amina benzílica.

No espectro de HMBC (Fig. 2.10.), foi possível observar a correlação em 3J de $H2^4$ com os carbonos carbonílicos $C2^1,2^3$, mostrando que a estrutura do composto obtido estava de acordo com a apresentada no esquema 2.31. (**16**).

No espectro de HSQC (Fig. 2.9.) foi atribuído o sinal a δ 41,3 ppm à ressonância do carbono $C2^4$, dado que tornou possível a atribuição inequívoca de $H2^5,2^9$, no espectro de HMBC, ao sinal a δ 7,29 ppm, uma vez que apenas estes prótons podem acoplar a 3J com $C2^4$.

O produto **16** foi obtido em rendimento quantitativo.

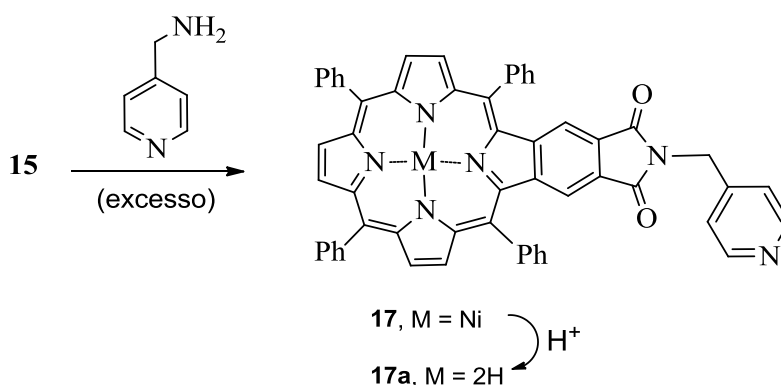
Procedeu-se ainda à descomplexação da ftalimida **16**, com obtenção da base livre **16a** (Esquema 2.31.) em rendimento quantitativo.

A presença do pico do ião molecular $[M]^{+}$ com um valor m/z 838 no espectro de massa e a presença do sinal a δ -2,67 ppm no espectro de RMN de ^1H (Fig. P2.17. do procedimento experimental) confirmaram a estrutura proposta.

Reação com a 4-(aminometil)piridina

Dada a facilidade da reação anterior, decidiu-se estender o procedimento anterior a outros compostos análogos. Como tal, considerou-se também a utilização da 4-(aminometil)piridina na reação com o anidrido ftálico **15**. Seguiram-se exatamente os procedimentos já descritos para a benzilamina anterior, tendo-se verificado que foram também necessárias 3 horas para que todo o anidrido de partida fosse totalmente consumido.

O produto obtido foi analisado por EM, tendo-se observado um ião molecular a $[M+H]^+$ com um valor m/z 881, concordante com a estrutura **17** (Esquema 2.32.).



Esquema 2.32.

No espectro de RMN de ^1H (Fig. P2.19. do procedimento experimental) foi possível observar o sinal a δ 4,80 ppm com uma integração correspondente a dois prótons e que correspondia à ressonância dos prótons benzílicos. Contudo, não foi possível observar isoladamente os sinais correspondentes à ressonância dos prótons do anel de piridina presente na molécula; observou-se apenas um sinal largo a δ 7,32-7,42

ppm com uma integração correspondente a dois prótons e dois multipletos a δ 7,61- 7,81 e 7,86-7,99 ppm com uma integração correspondente a um total de vinte e dois prótons, vinte dos quais pertencentes aos prótons dos grupos fenilo, ficando dois prótons que corresponderão aos restantes dois prótons do grupo piridilo.

É de salientar que o rendimento final da ftalimida **17** foi de apenas 33%, todavia crê-se que este resultado não corresponderá ao rendimento efetivo da reação, uma vez que ocorreram diversos problemas de solubilização do produto, que podem ter resultado em perda de composto durante os processos de tratamento e purificação da reação.

Por descomplexação, seguindo o procedimento já descrito para a BP **2**, foi possível obter a ftalimida **17a**, quantitativamente.

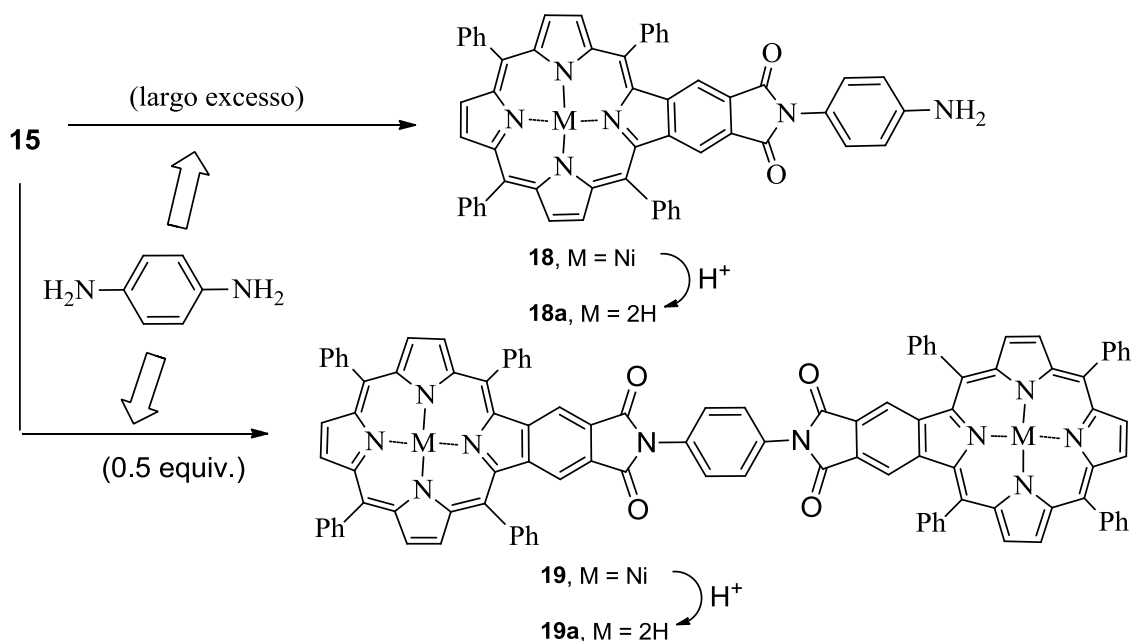
A estrutura do composto foi comprovada pelo seu espectro de massa, onde foi possível observar o pico do íon molecular $[M+H]^+$ a um valor m/z 825, e também pelo espectro de RMN de 1H (Fig. P2.20. do procedimento experimental) onde, ao contrário do registado para o complexo **17**, foi possível observar isoladamente os sinais relativos à ressonância dos prótons do resíduo de piridina a δ 8,54 e 7,32 ppm. Neste espectro foi possível observar também o sinal a δ 4,83 ppm respeitante à ressonância dos prótons benzílicos, sendo que no espectro de ^{13}C (Fig. P2.21. do procedimento experimental) se observou também o sinal do carbono correspondente a δ 40,6 ppm. Ainda relativamente ao RMN de 1H , a presença dos prótons internos do macrociclo foi comprovada pela existência do sinal a δ -2,66 ppm.

Reação com a benzeno-1,4-diamina

Uma vez provada a possibilidade de reação do anidrido porfirínico com aminas benzílicas, prosseguiu-se o estudo avaliando a reação com arilaminas, testando a reatividade com a benzeno-1,4-diamina.

Ao contrário do observado para a reação com as aminas anteriores, apenas ao fim de 16 horas se deixou de observar, por TLC, a existência de qualquer anidrido de partida. A reação foi dada por terminada uma vez que este parecia ter-se convertido na totalidade num novo derivado porfirínico.

No espectro de massa do produto obtido, observou-se um pico relativo ao íon molecular $[M]^{++}$ com um valor de m/z 880, que está em conformidade com a reação de uma molécula de diamina com o anidrido porfirínico de partida e, portanto, com a obtenção do derivado **18** (Esquema 2.33.).



Esquema 2.33.

No espectro de RMN de ^1H (Fig. P2.24. do procedimento experimental) a presença de dois novos sinais na forma de duplete, a δ 6,75 e 7,19 ppm, a integrar para um total de quatro prótons estava também de acordo com a estrutura da ftalimida *N*-substituída **18** (Esquema 2.33.).

O espectro de COSY (Fig. P2.26. do procedimento experimental) permitiu verificar a correlação (3J) entre os dois conjuntos de prótons, provando assim inequivocamente que estes se encontravam em carbonos adjacentes. O novo derivado de ftalimida foi obtido quantitativamente a partir do ácido ftálico **14**.

A ftalimida **18**, foi descomplexada à semelhança dos compostos anteriores, por tratamento com uma mistura $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CHCl}_3$. Foi obtida a respetiva base livre **18a** (Esquema 2.33.), cuja estrutura foi comprovada pelo seu espectro de massa, onde se observou o pico do íon molecular $[M]^{++}$ a um valor de m/z 824, e pelo espectro de RMN

de ^1H (Fig. P2.28. do procedimento experimental) onde se observou um sinal a δ -2,63 ppm indicativo da ausência de metal.

Neste caso avaliou-se também a possibilidade de construção de um dímero porfirínico. Com este objetivo em mente fez-se reagir o anidrido ftálico **15** com a benzeno-1,4-diamina em quantidades que favoreciam a formação do dímero (0,5 eq). Ao fim de 16 h a reação foi dada por terminada, uma vez que se verificou por TLC o consumo total do anidrido de partida, com formação de um novo produto.

No espectro de massa do produto obtido, observou-se um pico do íão molecular $[\text{M}]^+$ a um valor de m/z 1652, o que estava em conformidade com a formação do dímero porfirínico **19**.

Face aos resultados de espectrometria de massa e tendo em conta o elevado grau de simetria da estrutura provável, esperava-se a obtenção de um espectro de RMN de ^1H muito simples em que, para além dos sinais correspondentes à ressonância dos prótons β -pirrólicos e fenílicos, se esperaríamos observar apenas mais dois sinais na forma de singlete cada um com uma integração correspondente a quatro prótons, correspondentes à ressonância dos prótons do resíduo de benzeno-1,4-diamina e dos prótons dos grupos benzénicos fundidos nas posições β -pirrólicas.

No entanto, tal não se verificou, existindo alguns pontos críticos no espectro de RMN de ^1H obtido (Fig. P2.29. do procedimento experimental). Observaram-se três sinais na forma de singlete, dois deles com uma integração correspondente a três prótons cada (δ 7,53 e 7,65 ppm) e o restante com uma integração correspondente a dois prótons (δ 7,41 ppm), num total de oito prótons (Fig. 2.11.b).

Também o sinal correspondente à ressonância dos prótons β -pirrólicos (Fig. 2.11.a) apresentou uma multiplicidade não condizente com uma estrutura simétrica como a indicada no esquema 2.33.; esperar-se-iam obter dois dupletos e um singlete.

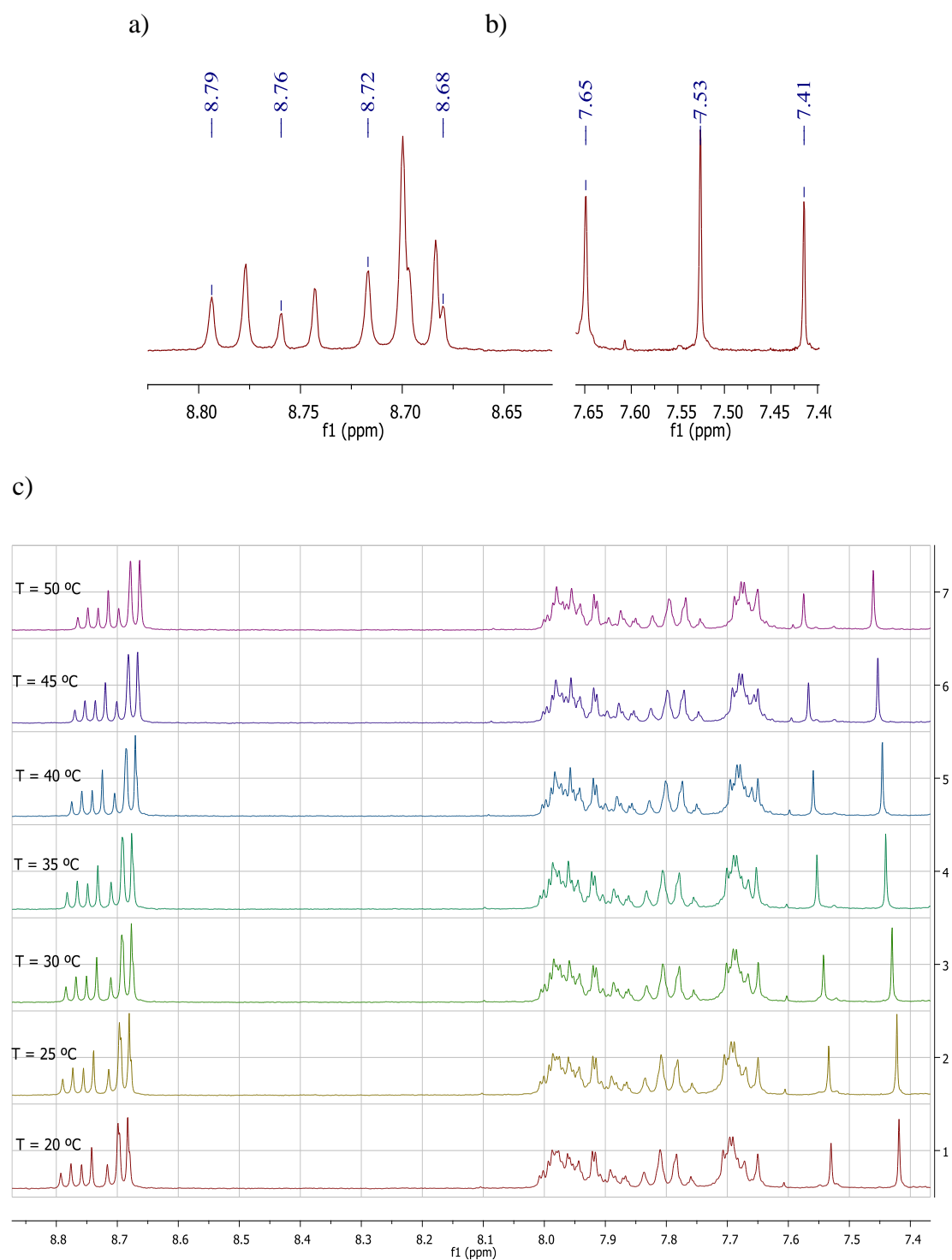


Figura 2.11. Alguns sinais do espectros de RMN de ^1H do dímero 19.

Mais ainda, o espectro de RMN de ^{13}C (Fig. P2.30. do procedimento experimental) apresentou também dois sinais na zona característica do aparecimento de sinais correspondentes à ressonância de carbonos carbonílicos a δ 167,4 e 168,6 ppm; apenas se esperava um único sinal nesta gama de desvios químicos.

Face aos resultados espectroscópicos obtidos colocou-se a hipótese de se estar perante uma mistura de compostos. Contudo, antes de obter os espectros de RMN, a TLC do produto obtido parecia evidenciar um grau de pureza elevado. Decidiu-se repetir a TLC do composto que permaneceu em solução de CDCl_3 para análise de RMN e detetaram-se diferenças significativas relativamente à referência de composto que permaneceu em sólido durante o mesmo tempo.

No caso em que o composto permaneceu em solução, foi visível a existência de duas manchas, quase sobrepostas, com um R_f praticamente coincidente com o da amostra que permaneceu em estado sólido. Alguns esforços foram levados a cabo no sentido de isolar cada uma das manchas, contudo sem sucesso. Foi repetido o espectro de massa da amostra que permaneceu em solução, não se tendo verificado qualquer alteração, mantendo-se apenas o registo do pico do ião molecular correspondente ao dímero.

A hipótese que se colocou, foi a da presença de mais do que um arranjo espacial possível para a mesma molécula **19**. Com esta suposição em mente, idealizou-se uma forma de obter dados espectroscópicos que apoiassem a premissa da existência de pelo menos duas conformações. Para isso, registaram-se os espectros de RMN de ^1H da solução de composto em CDCl_3 a diferentes temperaturas, tendo como ponto de partida a temperatura de 20 °C.

Esperar-se-ia obter uma conformação preferencial com o acréscimo de temperatura e a consequente alteração da multiplicidade ou integração de alguns dos sinais. Contudo, as únicas alterações registadas foram alterações dos desvios químicos de alguns sinais, facto que pode estar apenas relacionado com alteração da temperatura, sem qualquer relação com o equilíbrio formado entre as duas conformações espaciais idealizadas. Não se observou, portanto, qualquer relação entre o aumento da temperatura e o deslocamento do equilíbrio entre as conformações possíveis.

Ainda com o objetivo de justificar os sinais observados nos espectros de RMN de ^1H , foram efetuados alguns estudos teóricos pelo Doutor Sérgio Santos, bolseiro de investigação do CICECO, que gentilmente cedeu os dados que a seguir se descrevem.

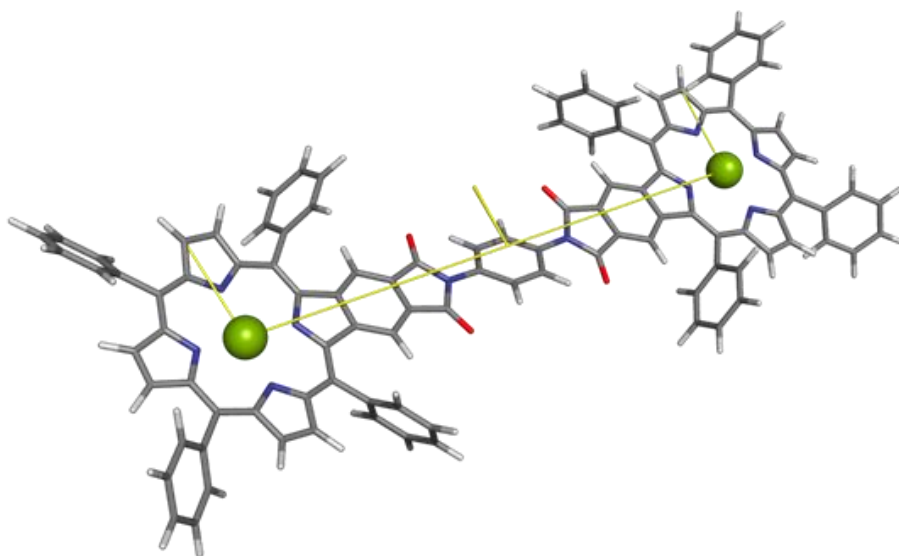
Foram conduzidas simulações de dinâmica molecular em solução de CHCl_3 . Estes estudos mostraram que o dímero **19** adota essencialmente duas conformações: uma em que as unidades porfirínicas e o anel benzénico central (proveniente da diamina) se encontram coplanares (conformação idêntica à de menor energia apresentada na fig. 2.12a.), em oposição a uma segunda em que as duas unidades porfirínicas se encontram dispostas perpendicularmente uma à outra (fig. 2.12b.).

Note-se que a transição entre as duas conformações dá-se de forma essencialmente livre em fase gasosa, dada a inexistência de impedimentos estereoquímicos intramoleculares significativos. Porém, e dada a elevada área superficial das duas porfirinas consituíntes do dímero, a rotação dar-se-á de forma lenta em solução, em consequência do relativamente elevado volume de solvente que é necessário deslocar para que a transição conformacional ocorra. Assim, e assumindo que tal conversão se dará numa escala temporal superior à dos fenómenos RMN, então as duas conformações são espectroscopicamente visíveis, pelo que a quebra de simetria evidenciada nos espectros experimentais pode ser explicada desta forma.

O novo dímero porfirínico foi obtido com um rendimento de 12%.

Foi também levado a cabo o procedimento de descomplexação do dímero **19** com o objetivo de obter a base livre **19a** (Esquema 2.33.). Obteve-se um novo composto que se acredita ser o produto descomplexado, dada a proximidade do R_f com o do precursor **19**. No entanto, a insolubilidade do derivado obtido não permitiu qualquer tipo de caracterização.

a)



b)

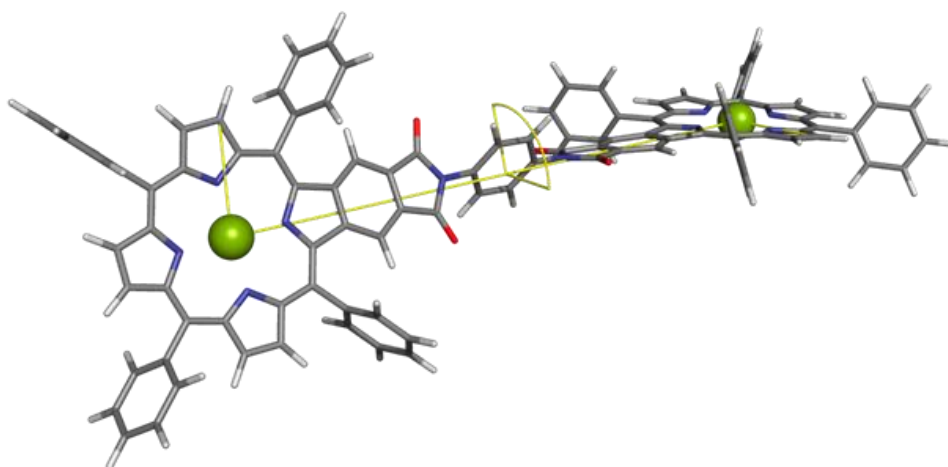
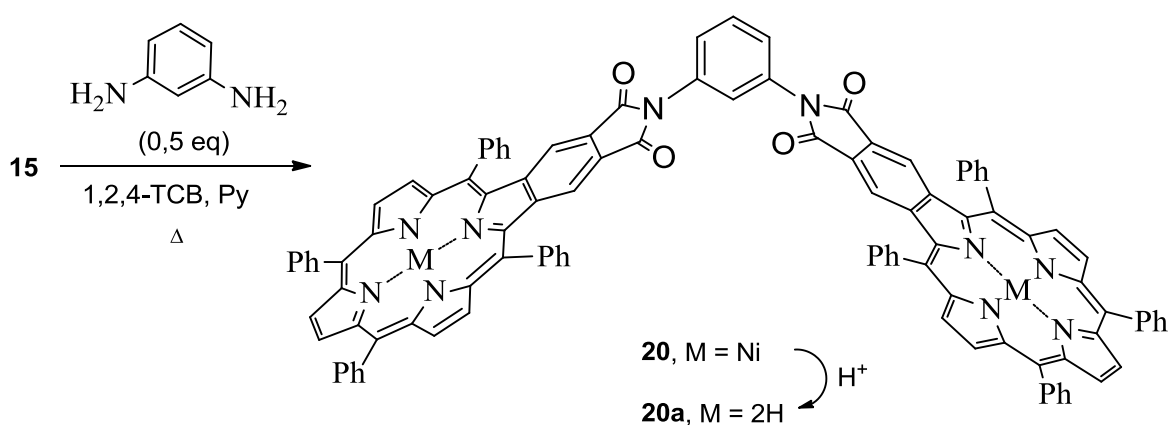


Figura 2.12. Conformações possíveis da molécula **19** em CHCl_3

Nota: As simulações de mecânica e dinâmica molecular foram efetuadas com o programa GROMACS 4.5.4.⁵⁶ A parametrização do dímero **19** foi efetuada por intermédio do programa antechamber,⁵⁷ com parâmetros retirados do campo de forças GAFF.⁵⁸ As cargas parciais foram obtidas através da metodologia RESP,⁵⁹ partindo do mapa de potencial eletrostático calculado ao nível HF/6-31G*, sobre a geometria previamente otimizada ao nível AM1, usando o programa Gaussian03.⁶⁰ Os parâmetros para as moléculas de CHCl_3 usadas como solvente, foram retirados de Fox *et al.*⁶¹

Reação com a benzeno-1,3-diamina

A ocorrência de reação do anidrido ftálico **15** com a benzeno-1,4-diamina para obtenção de um novo dímero porfirínico, levou-nos a equacionar a hipótese de utilizar a benzeno-1,3-diamina para sintetizar novos dímeros angulares de porfirina como o indicado nos esquemas 2.34.



Esquema 2.34.

Começou-se por gerar *in situ* o anidrido **15**, adicionando-se seguidamente a benzeno-1,3-diamina (0.5 equiv.), tendo-se dado a reação por terminada ao fim de 16 h. Ao fim deste tempo todo o anidrido de partida tinha sido consumido, registando-se a formação de novo composto de polaridade ligeiramente inferior ao precursor **15**. Após tratamento e purificação da mistura reacional, obteve-se um novo produto, em cujo espectro de massa se verificou a existência do ião molecular $[\text{M}]^{+}$ a um valor m/z 1652. Este dado permitiu inferir a estrutura **20** como sendo a do novo produto formado (Esquema 2.34.).

O espectro de RMN de ^1H (Fig. P2.33. do procedimento experimental) corroborou também a hipótese de formação do dímero **20**, indiciando através da integração dos sinais a existência de uma relação de 12H β -pirrólicos/40H *meso*-Ph/4H benzénicos/4H resíduo de benzeno-1,3-diamina. De destacar que no espectro de RMN de ^1H não foi possível observar isoladamente todos os sinais correspondentes à ressonância dos quatro

protões do resíduo de benzeno-1,3-diamina, estando o sinal de um destes protões sobreposto com os sinais correspondentes à ressonância dos protões dos grupos fenilo. Ainda de salientar que o dímero **20** apresentou um grau de agregação moderado em CDCl_3 , que permitiu o registo de um espectro de RMN de ^1H satisfatório, não se tendo verificado o mesmo na aquisição do respetivo espectro de RMN de ^{13}C , pelo que não foi possível obter uma caracterização completa deste composto, neste solvente.

O produto **20** foi obtido com um rendimento moderado de 19%.

Procedeu-se também à descomplexação do dímero **20**, agitando uma mistura de composto em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{SO}_4$ 9:1. Ao fim de 5 minutos observou-se, por TLC, a total conversão do precursor **20** na respetiva base livre **20a** (Esquema 2.34.). A identidade estrutural do produto obtido foi comprovada recorrendo ao seu espectro de massa, onde se registou a presença do ião molecular a $[\text{M}+\text{H}]^+$ a um valor de m/z 1541.

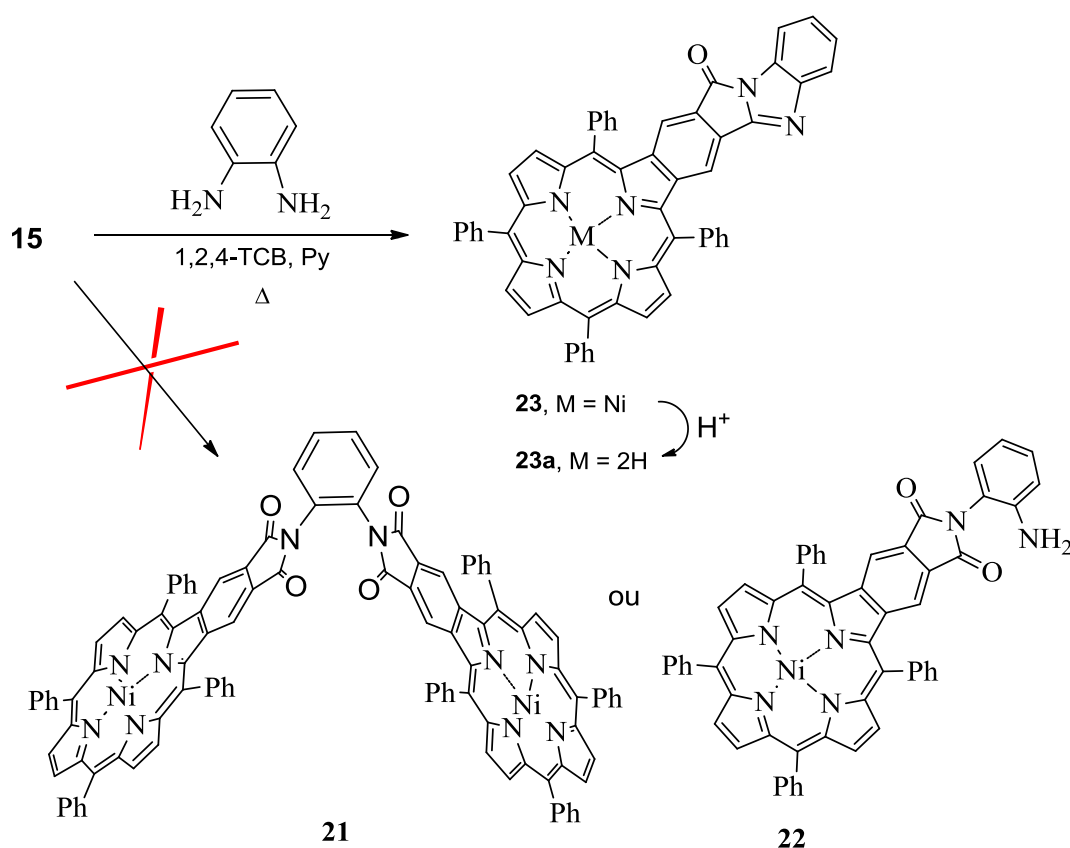
No espectro de RMN de ^1H (Fig. P2.34. do procedimento experimental) registou-se um padrão de sinais idêntico ao já descrito para o precursor complexado **20**, acrescentando o sinal a δ -2,61 ppm indicativo da ausência de metal no macrociclo.

É também de referir, que ao contrário do registado para o dímero **20**, neste caso, não se verificou qualquer tipo de agregação que influenciasse a aquisição do espectro de RMN de ^{13}C (Fig. P2.35. do procedimento experimental).

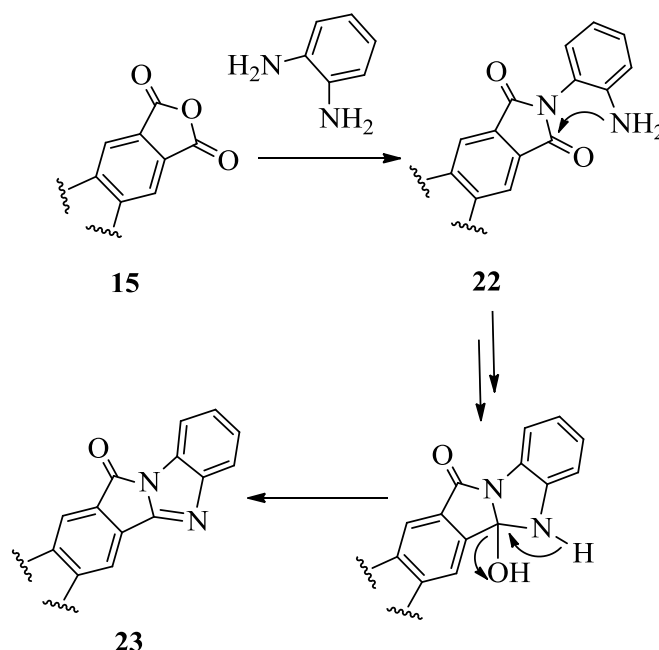
Reação com a benzeno-1,2-diamina

Avaliou-se também a possibilidade de uso da benzeno-1,2-diamina na reação com o anidrido ftálico **15**. Para isso fez-se reagir a porfirina **15**, gerada *in situ*, com a benzeno-1,2-diamina (0.5 equiv.) em piridina e 1,2,4-TCB, num banho de areia a 220 °C. Ao fim de 24 h, observou-se por TLC, a formação de um novo composto mais polar, ainda que em quantidade vestigial. Optou-se por adicionar mais 0.25 equiv. de diamina. Ao fim de 72h a reação foi dada por terminada, sendo de salientar a observação de uma base de cor negra na TLC da mistura reacional. Dada a elevada duração da reação, decidiu-se testar a mesma reação mas usando 1 equiv. de diamina, tendo-se verificado, ao fim de 16 horas, que não existia porfirina de partida no meio reacional e que se tinha formado o mesmo composto obtido no primeiro teste.

Após isolar o produto desta reação, constatou-se, após observação do espectro de massa do composto obtido que não estávamos na presença do dímero esperado **21** ou do monómero **22** (Esquema 2.35.). Observou-se um pico do ião molecular a um valor de m/z 863, que sugeriu a perda do átomo de oxigénio e de um ou dois átomos de hidrogénio relativamente à ftalimida **22**. Estes dados conduziram-nos a colocar a hipótese de, após a reação do primeiro grupo amino com o anidrido ftálico de partida, ocorresse uma reação intramolecular entre o segundo grupo amino e o grupo carbonilo que se encontrava espacialmente próximo (Esquema 2.36.), com obtenção do derivado **23** (Esquema 2.35.), à semelhança do que havia sido já reportado na literatura para outras famílias de compostos.⁶²



Esquema 2.35.



Esquema 2.36.

Como tal, o pico do íão molecular observado corresponde ao íão $[M+H]^+$.

Após observação do espectro de RMN de ^1H do produto obtido (Fig. P2.39. do procedimento experimental) esta hipótese foi confirmada. O sinal correspondente à ressonância dos prótons H1,4 (Fig. 2.13.) deixou de aparecer na forma de um único singlete e passou a aparecer na forma de dois singletos, uma vez que neste caso a molécula deixou de ser simétrica. Relativamente à ressonância dos prótons H2⁵⁻²⁸, puderam distinguir-se dois sinais correspondentes à ressonância de dois conjuntos de prótons; um multipeto a δ 7,26-7,33 ppm correspondente à ressonância dos prótons H2⁵ e H2⁸ e um multipeto a δ 7,72-7,78 ppm correspondente à ressonância dos prótons H2⁶ e H2⁷ (Fig. 2.13.). A correlação entre estes dois conjuntos de prótons encontra-se evidenciada no espectro de COSY (Fig. 2.13.), provando assim inequivocamente que os dois conjuntos de prótons se encontram em carbonos adjacentes. A atribuição de cada um dos conjuntos de sinais, foi ainda feita com base na análise do espectro de HSQC (Fig. 2.14.); os prótons H2⁶ e H2⁷ apresentaram correlação com apenas um carbono enquanto os prótons H2⁵ e H2⁸ apresentaram correlação com dois carbonos diferentes.

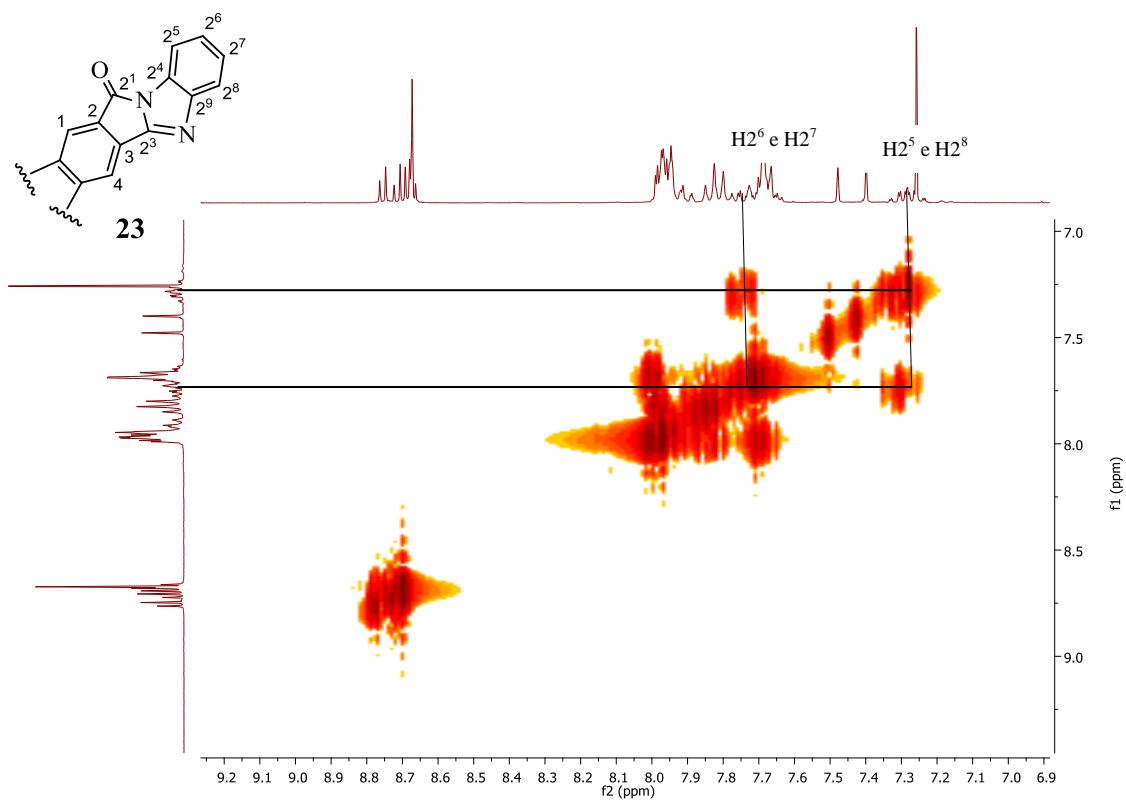


Figura 2.13. Espectro parcial de COSY do composto **23**.

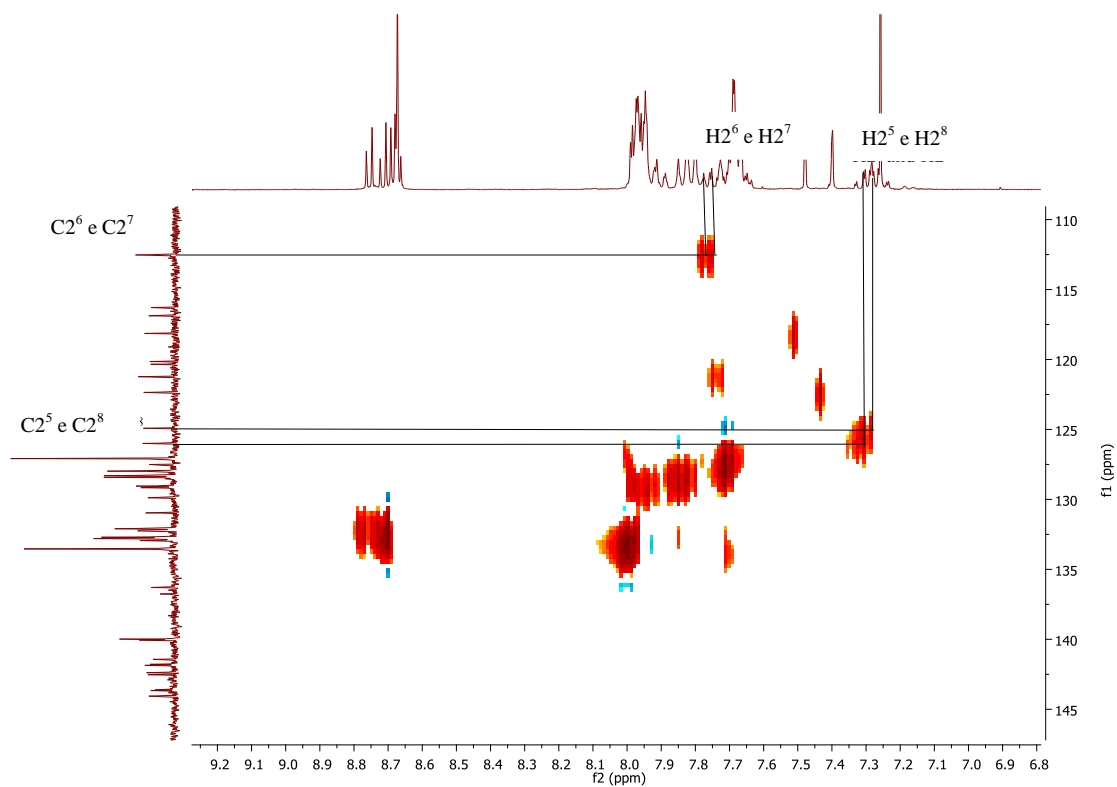


Figura 2.14. Espectro parcial de HSQC do composto **23**.

Este facto é justificado com base no ambiente químico destes dois conjuntos de prótons, que no primeiro caso é praticamente igual para os dois carbonos, enquanto que, no segundo caso, é significativamente diferente.

O composto **23** foi obtido com um rendimento de 36 %.

O produto **23** foi também descomplexado fazendo uso da metodologia já descrita para os demais compostos. Foi assim obtido o produto **23a**, cuja estrutura foi confirmada através do espectro de massa onde foi possível observar o pico do ião molecular a $[M+H]^+$ a um valor de m/z 807. A descomplexação foi também comprovada pela presença de um sinal a δ -2,60 ppm, no espectro de RMN de 1H (Fig. P2.41. do procedimento experimental), resultante da ressonância dos prótons NH internos do macrociclo. De ressaltar que se manteve o mesmo padrão de sinais relativos à ressonância dos restantes prótons da molécula, apenas com algumas diferenças nos valores de desvios químicos. Foi ainda registado o espectro de HMBC do composto **23a** (Fig. 2.15.), onde foi possível distinguir inequivocamente os prótons H1 e H4; apenas o próton H1 apresenta uma correlação 3J com o carbono carbonílico C2¹. Após esta atribuição tornou também possível a identificação inequívoca de C1 e C4 no espectro de HSQC (Fig. 2.16.).

O produto **23a** foi obtido quantitativamente.

Reação com o naftaleno-1,8-diamina

O resultado interessante obtido com a reação entre o anidrido ftálico **15** e a benzeno-1,2-diamina, conduziu-nos a considerar a possibilidade de preparar compostos análogos ao derivado **23** a partir da reação entre o precursor porfirínico e o naftaleno-1,8-diamina. Para isso fez-se reagir a porfirina **15**, gerada *in situ*, com a naftaleno-1,8-diamina (0,5 equiv.) em piridina e 1,2,4-TCB, num banho de areia a 220 °C. Ao fim de 48h a reação foi dada por terminada, uma vez que se observou consumo total da porfirina de partida com formação de um novo composto.

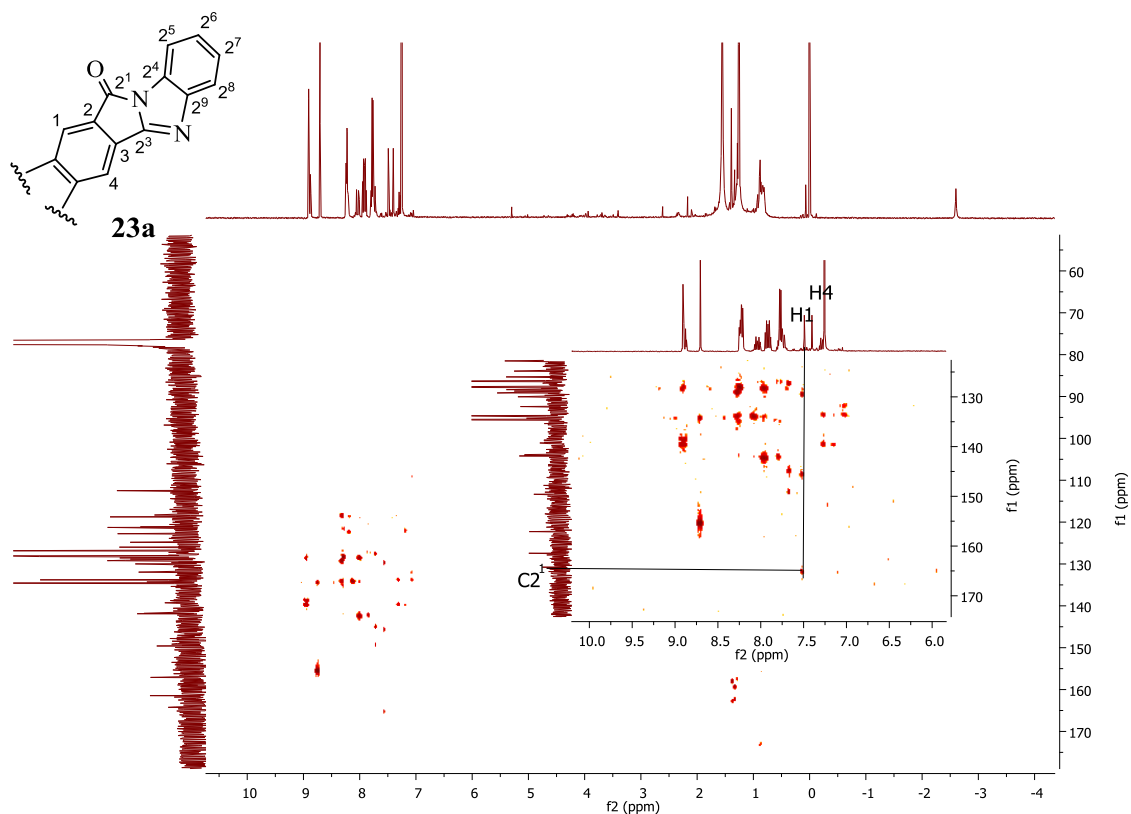


Figura 2.15. Espectro de HMBC do composto **23a**.

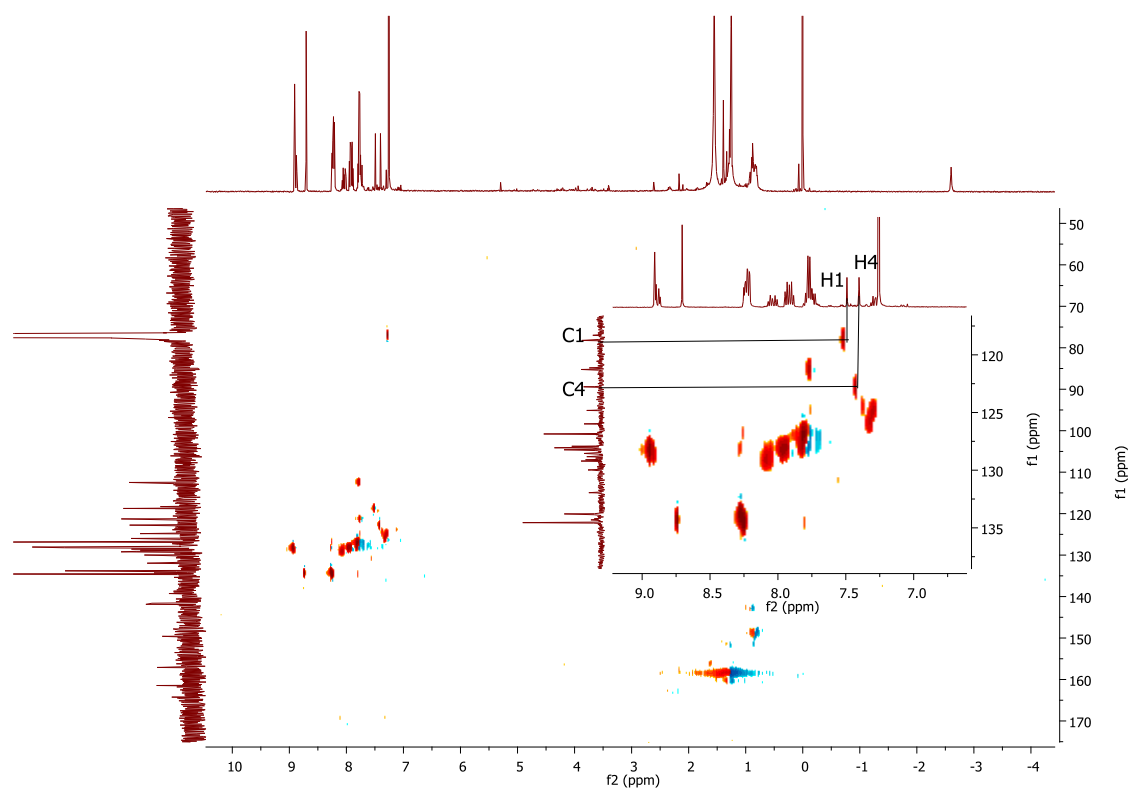
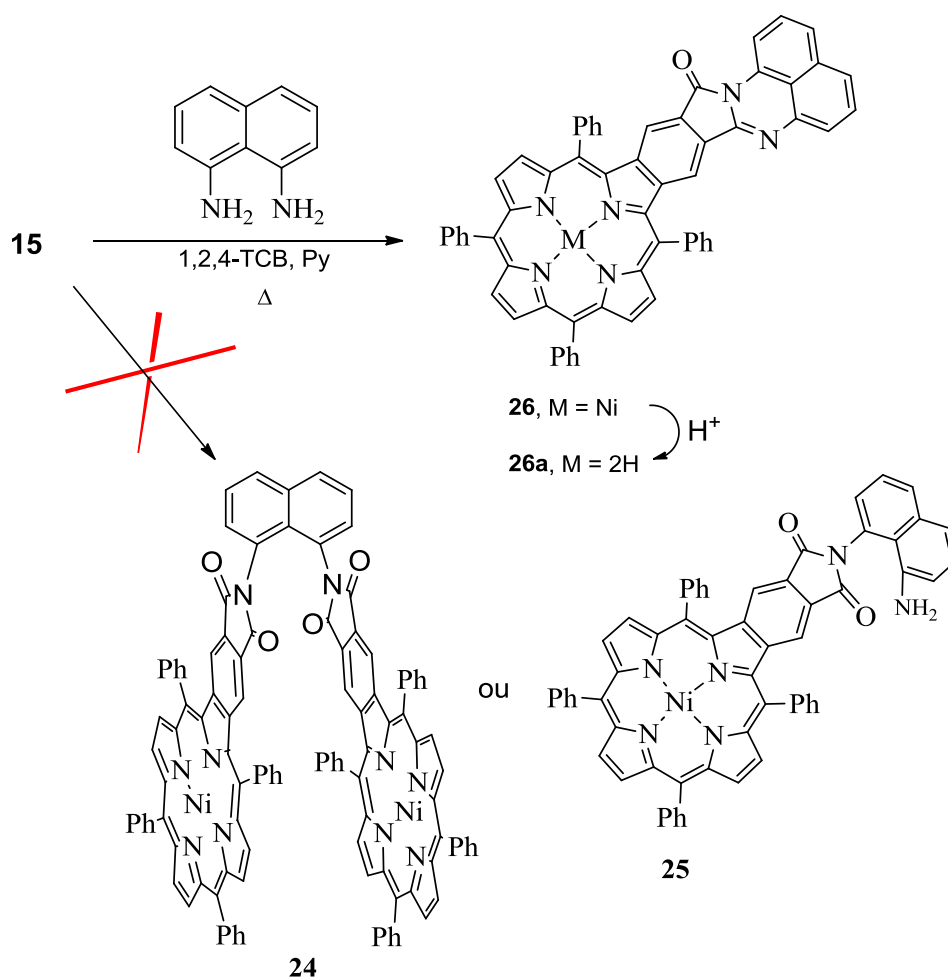


Figura 2.16. Espectro parcial de HSQC do composto **23a**.

Tal como no caso da benzeno-1,2-diamina também se testou a mesma reação usando 1 equiv. da diamina e ao fim de 16 horas a reação tinha terminado, tendo sido notório, por TLC, a formação de uma maior quantidade de produto em relação ao primeiro teste. A mistura reacional foi submetida ao mesmo processo de tratamento já descrito para as reações com as restantes diaminas.

Tal como o já descrito para o produto **23**, também neste caso não se observou no espectro de massa os picos de ião molecular correspondentes aos possíveis derivados ftálicos monomérico **25** (m/z 930) ou dimérico **24** (Esquema 2.37.) (m/z 1702).



De facto, no espectro de massa observou-se um pico de ião molecular $[M+H]^+$ a um valor de m/z 913, que mais uma vez levou a considerar a ocorrência de uma reação intramolecular entre o grupo amino e o grupo carbonilo que se encontra espacialmente próximo, após ocorrer a primeira reação com o anidrido ftálico, com formação da ftalimida correspondente (Esquema 2.37.).

Esta suposição foi validada pela análise do espectro de RMN de 1H (Fig. P2.44. do procedimento experimental) que apresentou dois sinais na forma de singletos correspondentes à ressonância dos prótons H1 e H4 (numeração na fig. 10), o que indicou a assimetria da molécula, já observada no caso do derivado **23**.

Para além destes sinais foi também possível identificar os sinais correspondentes à ressonância dos prótons provenientes dos anéis aromáticos do naftaleno-1,8-diamina.

De todos estes prótons, o mais desprotegido é o próton H2⁵, uma vez que está sob influência do efeito desprotetor do oxigénio do grupo carbonilo espacialmente próximo. Este sinal surgiu na forma de duplete devido ao acoplamento com H2⁶; apesar de os sinais correspondentes à ressonância dos prótons H2⁶-H2¹¹ terem surgido na forma de multipletos, foi possível observar a correlação entre o sinal de H2⁵ e o multipletos correspondente à ressonância de H2⁶-H2¹¹ no espectro COSY (Fig. 2.17.).

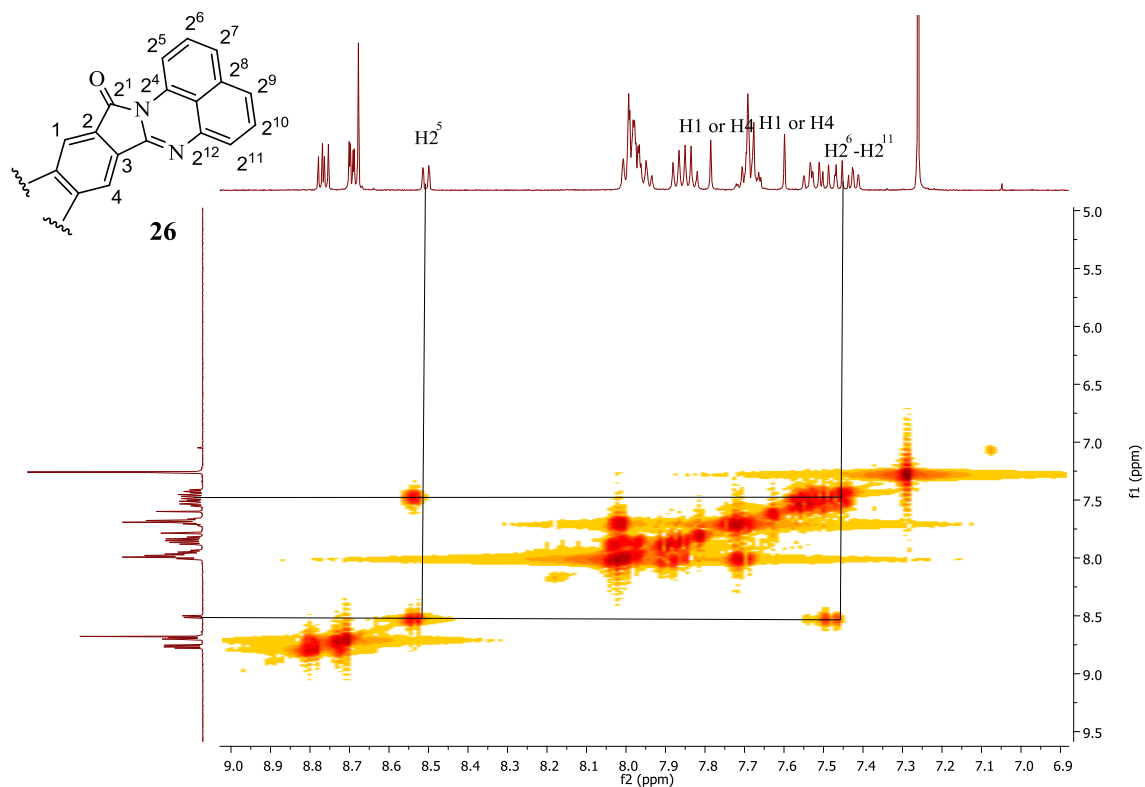


Figura 2.17. Espectro parcial de COSY do composto **26**.

Foi obtido o produto **26a**, cuja estrutura foi confirmada através do espectro de massa, por observação do pico do íon molecular a $[M+H]^+$ a um valor de m/z 857. A descomplexação foi também comprovada pela presença de um sinal a δ -2,80 ppm, no espectro de RMN de 1H (Fig. P2.47. do procedimento experimental), resultante da ressonância dos prótons NH internos do macrociclo. À semelhança do que foi efetuado com o composto **23a**, também neste caso se registou o espectro de HMBC do composto **26a** (Fig. P2.50. do procedimento experimental), onde foi possível distinguir inequivocamente os prótons H1 e H4; apenas o próton H1 apresenta uma correlação 3J com o carbono carbonílico C2¹. Esta atribuição tornou também possível a identificação inequívoca de C1 e C4 no espectro de HSQC (Fig. P2.51. do procedimento experimental).

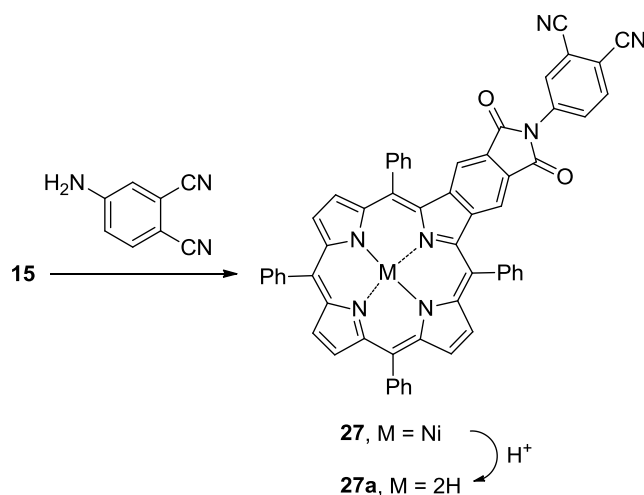
O produto **26a** foi obtido quantitativamente.

Reação com o 4-aminofaltonitrilo

Face ao sucesso dos resultados obtidos nas reações do anidrido ftálico **15** com diferentes diaminas, pensou-se que poderia constituir um ponto de interesse a reação com aminas contendo outras funcionalidades.

Neste sentido, e tendo por base o trabalho já desenvolvido pelo grupo de química orgânica da Universidade de Aveiro na síntese de ftalonitrilos contendo unidades porfirínicas,^{63,64} idealizou-se a reação da porfirina **15** com o 4-aminofaltonitrilo (Esquema 2.38.), seguindo o procedimento já descrito para as aminas anteriores.

A reação ocorreu com excesso de ftalonitrilo, tendo sido necessárias 24h para que, por TLC, já não se detetasse reagente de partida. Ao fim deste tempo, para além do consumo total de **15**, observou-se a formação de um único produto, sendo de realçar a inexistência de qualquer tipo de base indicativa de degradação de reagente e/ou produto.



Esquema 2.38.

Após tratamento e isolamento do produto obtido, analisou-se o espectro de massa do mesmo, onde foi possível observar um pico do ião molecular $[M]^{+}$ a um valor m/z 915, revelador da ocorrência de reação, com formação do ftalonitrilo **27** (Esquema 2.38.).

O espectro de RMN de 1H (Fig. P2.52. do procedimento experimental) tornou também evidente a obtenção do ftalonitrilo **27**. Para além de todos os sinais já observados no seu precursor, registou-se também o aparecimento de três sinais adicionais que claramente estão relacionados com a entrada do resíduo de 4-aminofthalonitrilo na molécula. Dois destes sinais apareceram isoladamente no espectro de RMN 1H a δ 8,08 e 8,20 ppm (Fig. 2.18.), cada um com uma integração correspondente à ressonância de um protão, na forma de um duplo duplete e de um duplete, respetivamente.

As constantes de acoplamento ($J = 2,1$ Hz) sugeriram que estes dois protões se encontravam a acoplar um com o outro, não tendo restado dúvidas que os dois sinais correspondiam à ressonância dos protões $H2^8$ (δ 8,08 ppm) e $H2^4$ (δ 8,20 ppm) (Fig. 2.18.).

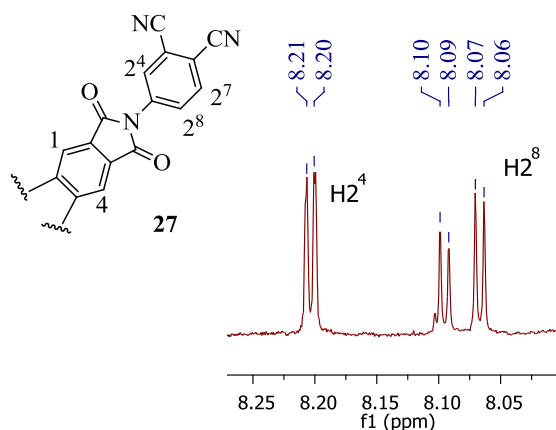


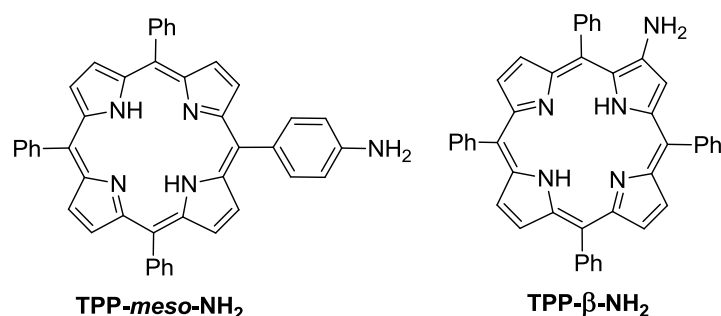
Figura 2.18. Espectro parcial de RMN de ¹H do composto **27**.

A atribuição de um e de outro sinal teve em conta a multiplicidade; H2⁴ acopla apenas com H2⁸, todavia, H2⁸ acopla com H2⁷ e com a H2⁴ a longa distância. O sinal correspondente à ressonância de H2⁷ encontra-se dissimulado com os sinais correspondentes à ressonância dos prótons fenílicos das posições *meso* do macrociclo, contudo a integração destes sinais não deixa margem para dúvida para a existência de um próton adicional no conjunto de multipletos que lhes diz respeito. De notar ainda que o novo ftalonitrilo porfirínico sintetizado foi obtido com 62% de rendimento.

O composto **27** foi também descomplexado, com obtenção da base livre **27a**, quantitativamente. A natureza estrutural de **27a** foi comprovada através do seu espectro de massa onde foi possível observar o pico do ião molecular [M+H]⁺ a um valor de *m/z* 860 e pelo seu espectro de RMN de ¹H (Fig. P2.54. do procedimento experimental) onde foi possível observar o sinal a δ -2,65 ppm, correspondente aos NH internos do macrociclo.

2.4.1.2. Arilaminas macrocíclicas

No seguimento do tópico anterior e dando continuidade aos estudos de reatividade do anidrido ftálico **15**, pensou-se que a metodologia sintética anterior poderia servir de modelo à obtenção de díades porfirina-porfirina por reação direta entre macrociclos diferentes. Com este objetivo em mente selecionaram-se os dois macrociclos apresentados no esquema 2.39.: 5-(4-aminofenil)-10,15,20-trifenilporfirina (**TPP-meso-NH₂**) e b) 2-amino5,10,15,20-tetrafenilporfirina (**TPP-β-NH₂**).

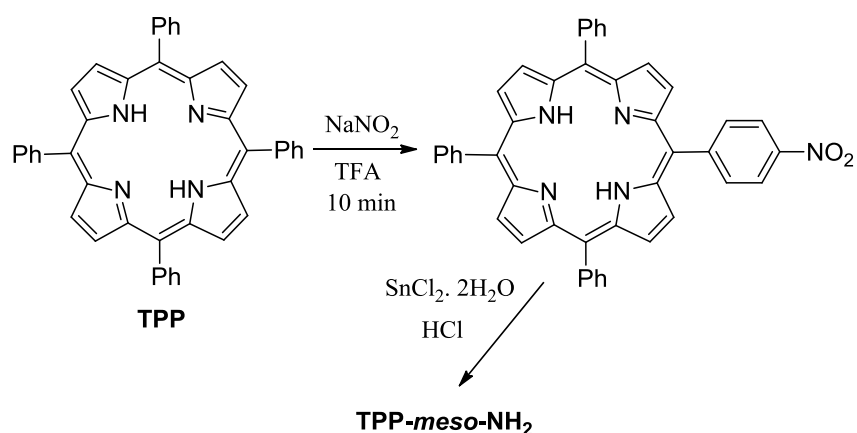


Esquema 2.39.

Antes de iniciar os estudos de reatividade, procedeu-se à síntese das duas porfirinas aminadas **TPP-meso-NH₂** e **TPP-β-NH₂**.

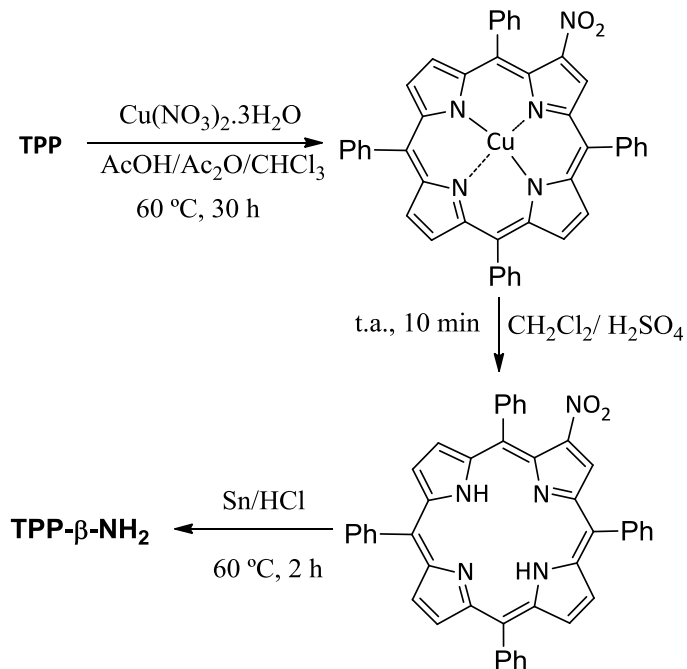
A **TPP-meso-NH₂** foi preparada a partir da *meso*-tetrafenilporfirina (**TPP**) de acordo com a sequência reacional apresentada no esquema 2.40.⁶⁵

Iniciou-se a síntese pela nitração da **TPP**, com nitrito de sódio e TFA. Após purificação do derivado nitrado, seguiu-se a redução do grupo nitro, com cloreto de estanho (II) em HCl. A **TPP-meso-NH₂** esperada foi obtida, após purificação em coluna de sílica e cristalização, com um rendimento de 78%.



Esquema 2.40.

A **TPP-β-NH₂** foi também preparada a partir da **TPP**, mas utilizando um processo de nitração alternativo que envolve o uso de Cu(NO₃)₂ em ácido acético e anidrido acético, de acordo com o apresentado no esquema 2.41. Após remoção do Cu(II) com H₂SO₄, segue-se o processo de redução com Sn e ácido clorídrico, obtendo-se o derivado **TPP-β-NH₂** com um rendimento 54%.

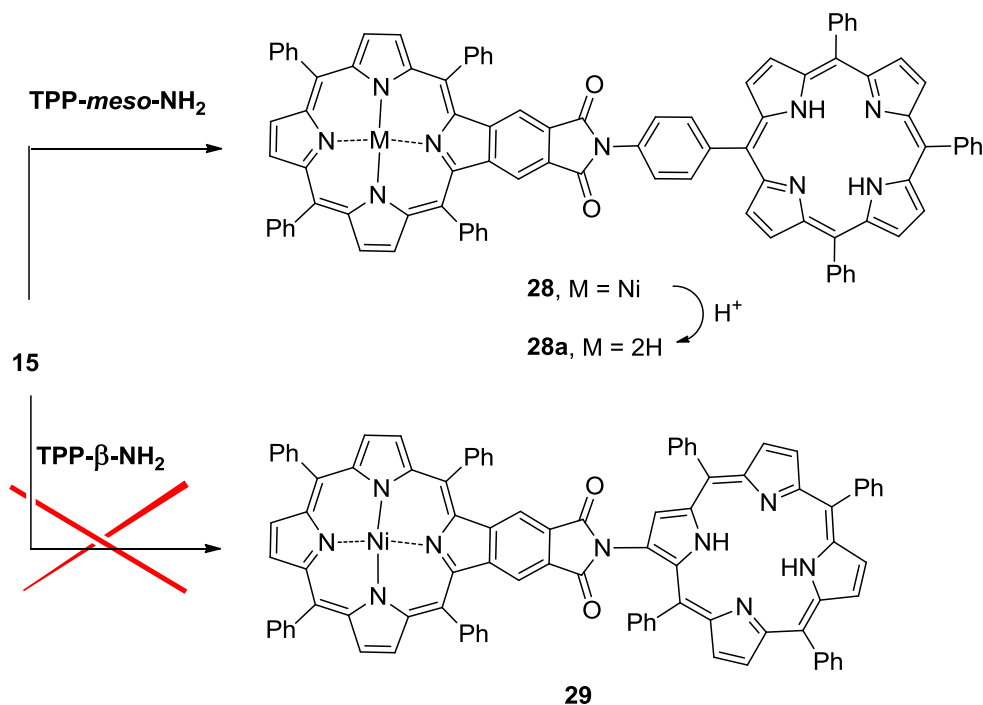


Esquema 2.41.

Reação com TPP-meso-NH₂

Nos estudos de reatividade do anidrido benzoporfirínico **15** com a **TPP-meso-NH₂**, em quantidades equimolares, foram usadas as condições reacionais já descritas para as arilaminas simples. Verificou-se a formação de um novo produto de polaridade inferior aos seus dois precursores, sendo que ao fim de 72 h, a reação estava completa.

O espectro de massa do novo produto obtido indicou a formação da díade **28** (Esquema 2.42.), uma vez que foi observado o ião molecular $[M+H]^+$ a um valor de m/z 1402.



Esquema 2.42.

O espectro de RMN de ¹H (Fig. P2.56. do procedimento experimental) permitiu também a observação dos sinais correspondentes à ressonância de todos os prótons constituintes da díade. A δ -2,78 ppm observou-se um sinal na forma de singleto, com uma integração correspondente a dois prótons, indicativo da presença do resíduo de **TPP-meso-NH₂**, uma vez que este macrociclo não se encontrava complexado com qualquer metal.

Na zona de δ onde normalmente são observados os sinais correspondentes à ressonância dos prótons β -pirrólicos, registou-se o aparecimento de dois multipletos a δ 8,72-8,74 e 8,86-8,93 ppm e um duplete a δ 8,83 ppm que no seu conjunto apresentavam uma integração relativa a catorze prótons indicando a presença dos seis prótons β -pirrólicos provenientes do anidrido benzoporfirínico e dos oito prótons β -pirrólicos oriundos da aminoporfirina. Verificou-se ainda a presença de um conjunto de multipletos no intervalo a δ 7,67-8,36 ppm com uma integração total correspondente a 40 prótons fenílicos e um singlete a δ 7,60 ppm com origem na ressonância dos dois prótons benzénicos do grupo fatlimida. O conjunto de dados espectroscópicos descritos permitiu inferir que a estrutura da díade obtida corresponde à proposta do esquema 2.42., tendo o derivado **28** sido obtido com um rendimento de 62%.

O produto **28** foi ainda descomplexado fazendo uso da metodologia já descrita para os demais compostos. Foi obtida a base livre **28a**, cuja estrutura foi confirmada através do espectro de massa onde foi possível observar o pico do ião molecular $[M]^{++}$ a um valor de m/z 1346. A descomplexação foi também comprovada pela presença dos dois sinais a δ -2,76 e -2,59 ppm no espectro de RMN de 1H (Fig. P2.58. do procedimento experimental), resultante da ressonância dos prótons NH internos dos dois macrociclos presentes na estrutura, estando os restantes sinais de acordo com o complexo **28**.

Reação com TPP- β -NH₂

Seguidamente foi testada a possibilidade de obtenção de uma díade semelhante à anterior, mas usando a **TPP- β -NH₂** como amina (Esquema 2.42.). Embora tivessem sido usados os mesmos procedimentos experimentais descritos para a **TPP-meso-NH₂**, verificou-se que após 24h de reação não se havia formado qualquer produto maioritário. Na TLC da mistura reacional eram visíveis várias manchas de compostos em quantidades vestigiais com polaridades superiores, intermédias e inferiores a ambos os materiais de partida. A amostra de **TPP- β -NH₂** usada como referência para o seguimento da evolução da reação, apresentou alguma degradação ao permanecer por algumas horas em CHCl₃, o que mostra a instabilidade estrutural do composto, a qual

será ainda aumentada quando este é exposto a temperaturas elevadas. Mais ainda, associada à instabilidade estrutural do composto, também o impedimento estérico será responsável pela ausência de reação.

Em resumo, estas condições não conduziram à obtenção de qualquer composto isolável, pelo que foram abandonadas.

2.4.2. Síntese de uma díade porfirina-ftalocianina

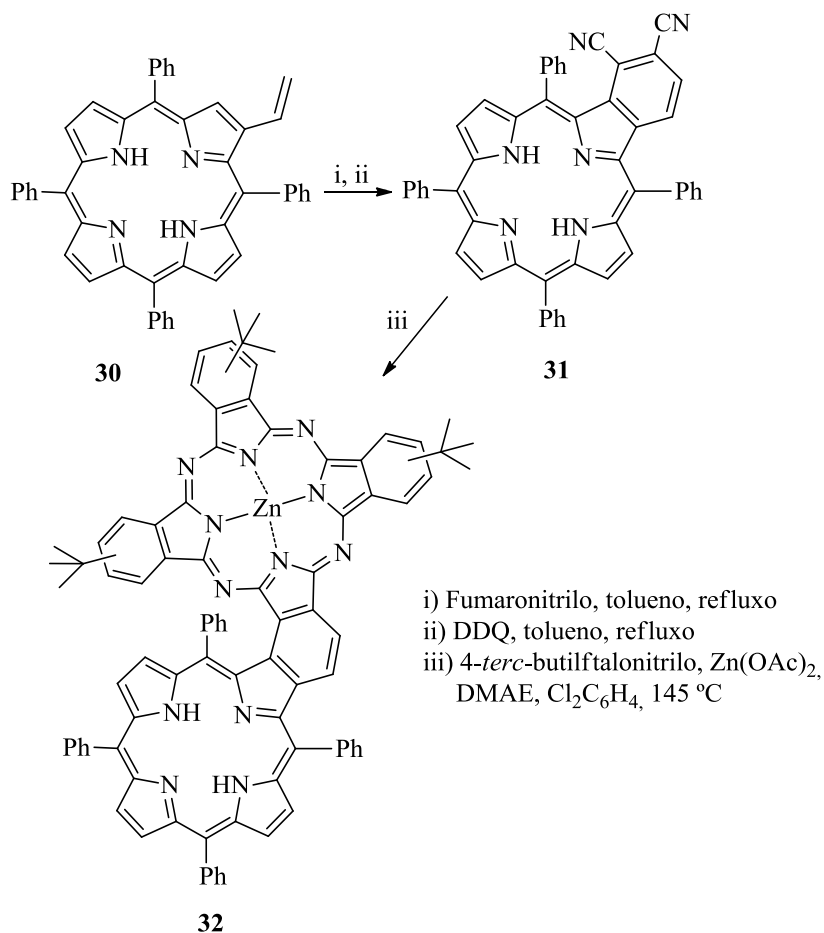
Face à versatilidade apresentada pelo anidrido ftálico **15** na reação com diferentes aminas, pensou-se que este derivado poderia ser usado também como plataforma para a síntese de novas díades porfirina-ftalocianina fundidas. O grupo de Química da Universidade de Aveiro tem vindo a reportar diferentes possibilidades para a síntese de díades porfirina-ftalocianina,^{63,64} nomeadamente rotas sintéticas que permitem a obtenção de compostos em que as duas unidades se encontram fundidas por meio de um anel benzénico. Curiosamente, a síntese do primeiro sistema porfirina-ftalocianina diretamente fundido foi realizada neste grupo de investigação.⁶⁴ O método utilizado (Esquema 2.43.) envolveu a cicloadição [4+2] da vinilporfirina **30** ao fumaronitrilo, seguida de oxidação e subsequente obtenção do ftalonitrilo **31**.

Posteriormente, o ftalonitrilo **31** foi condensado com o 4-*tert*-butilftalonitrilo, em condições clássicas de síntese de ftalocianinas, com obtenção da díade **32**.

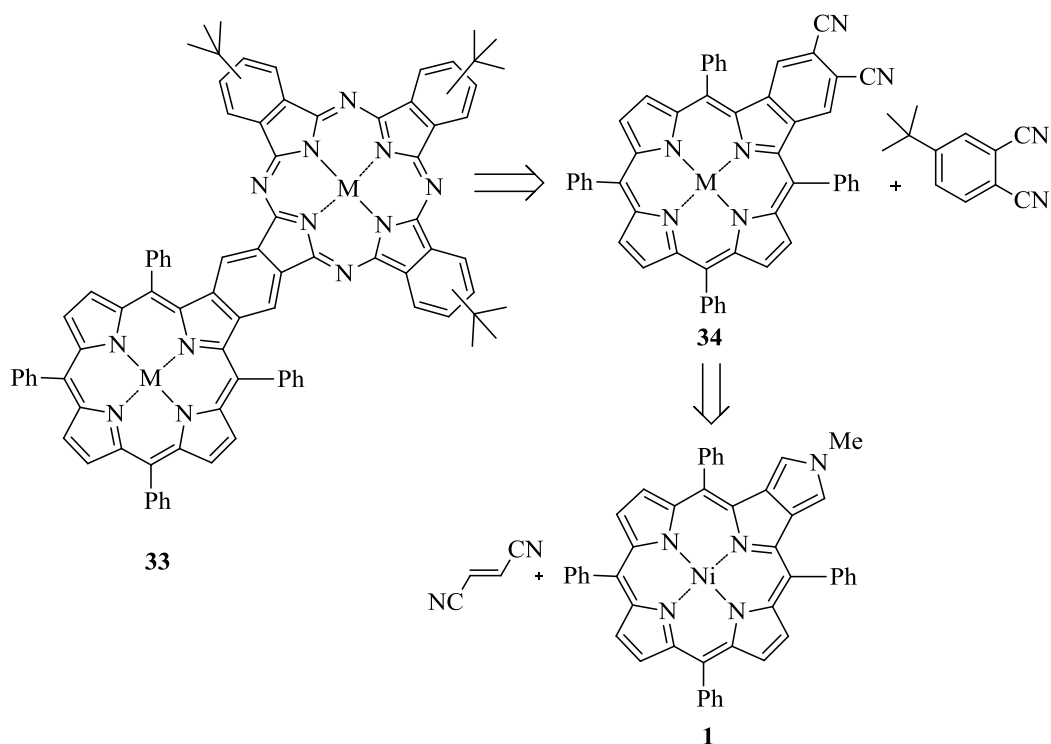
O sucesso deste método levou-nos a idealizar uma rota sintética que permitisse a síntese de díades análogas a esta, mas com geometria linear (Esquema 2.44.).

A rota sintética idealizada pressupunha a síntese inicial do ftalonitrilo **34**, por cicloadição [4+2] da pirroloporfirina **1** ao fumaronitrilo.

Testaram-se várias condições reacionais (tabela 2.1.) com o objetivo de obter o derivado **34**, contudo sem sucesso.



Esquema 2.43.



Esquema 2.44.

Tabela 2.1. Condições utilizadas na tentativa de síntese do ftalonitrilo **34**.

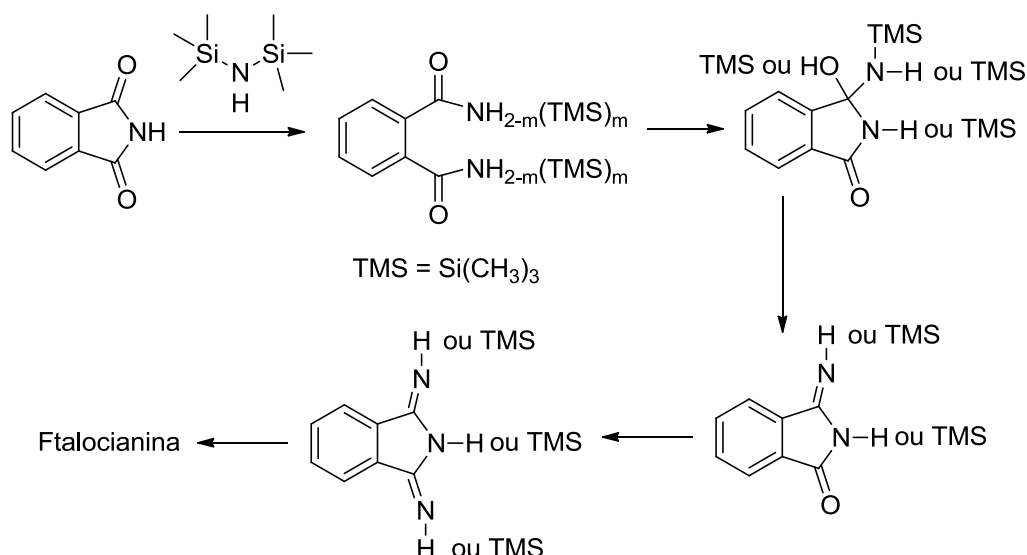
Solvente	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Tipo de atmosfera
CHCl ₃	40	72	N ₂
ClCH ₂ CH ₂ Cl	60	12	N ₂
ClCH ₂ CH ₂ Cl	90	48	N ₂
Tolueno	110	48	N ₂
Tolueno	110	48	Tubo selado
<i>o</i> -diclorobenzeno	150	48	O ₂
<i>o</i> -diclorobenzeno	181	48	Tubo selado
1,2,4-TCB	222	48	Tubo selado

Experimentaram-se ainda algumas condições em micro-ondas, mas não ocorreu formação de qualquer novo derivado. Mesmo a altas temperaturas, apenas se observaram compostos em quantidades vestigiais, provavelmente com origem numa pequena degradação da porfirina de partida.

Face ao fracasso da rota sintética anterior, idealizou-se uma via alternativa para a obtenção de díades do tipo **33**, envolvendo o anidrido ftálico **15**. Esta via alternativa teve por base o trabalho recentemente reportado por Toru *et al.*, envolvendo a utilização de um método de condições suaves para síntese de ftalocianinas, partindo de anidridos ftálicos ou ftalimidas.⁶⁶ A nova metodologia desenvolvida envolveu a utilização de hexametildisilazano (HMDS), DMF, CuCl₂ e ácido *p*-toluenossulfónico mono-hidratado (*p*-TsOH.H₂O). Existem várias vias plausíveis para o mecanismo de ocorrência da reação e consequente formação da ftalocianina correspondente. O esquema 2.45. ilustra uma das direções mecanísticas possíveis; o HMDS ataca o carbono carbonílico ativado de modo a obter a ftalamida correspondente, que é ciclizada para formar a 1,3-diiminoisoindolina através da 3-iminoisoindolina.

A diiminoisoindolina é largamente conhecida como precursora de ftalocianinas, permitindo a sua formação em condições suaves.⁶⁶

Benzoporfirinas – Síntese e Reatividade



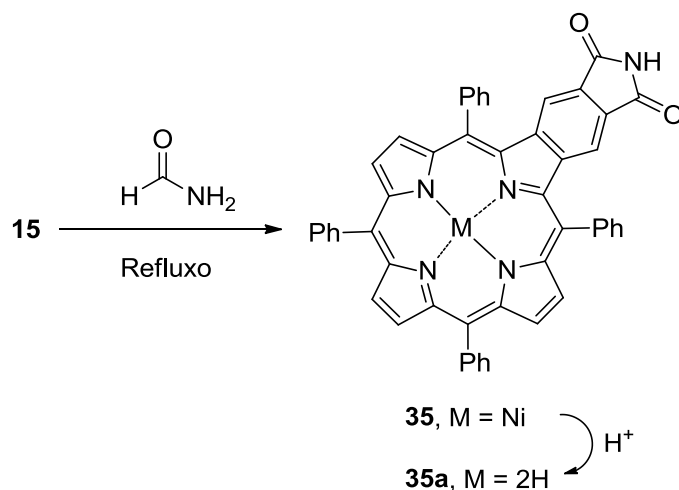
Esquema 2.45.

De notar que o HMDS é usado como uma fonte de azoto, para além de acelerar os passos de desidratação formando ligações $\text{C}=\text{N}$ por remoção fácil do grupo hidroxilo e éter trimetilsilílico. Mais ainda, o HMDS apresenta nucleofilicidade suficiente perante os grupos carbonilo da imida ou anidrido quando ativados com um ácido prótico forte. Ainda de referir que para além do CuCl_2 , os autores usaram outras fontes de metal, contudo foi com o CuCl_2 que os melhores rendimentos foram obtidos.

A metodologia desenvolvida por Toru *et al.* apresentou a versatilidade de poder ser usada com anidridos ftálicos e ftalimidas, o que numa primeira abordagem nos poderia facilmente conduzir à ideia de que a partir do anidrido ftálico **15** seria possível construir uma díade do tipo **33** por condensação do anidrido 4-*terc*-butilftálico. No entanto, esta ideia foi colocada de parte uma vez que o precursor **15** é gerado *in situ* a altas temperaturas e usando 1,2,4-TCB ou anidrido acético; a utilização de um solvente (mesmo que em quantidades vestigiais, como é o caso do anidrido acético que pode ser evaporado facilmente) suplementar às condições já descritas iria trazer para discussão uma variável adicional, não permitindo avaliar a viabilidade do método reportado na literatura na síntese da ftalocianina assimétrica pretendida.

Como tal, pensou-se sintetizar a ftalimida **35** (Esquema 2.46.) a partir do anidrido **15**. Esse composto supostamente apresentaria uma estabilidade superior ao seu

precursor e que poderia ser obtido na forma de sólido. A síntese da ftalimida **35** (Esquema 2.46.) foi inspirada num método já reportado na literatura⁵⁴ e que envolveu o uso de formamida aquecida a refluxo. Este solvente foi utilizado como fonte de azoto, uma vez que a elevadas temperaturas a formamida se decompõe em amónia e monóxido de carbono.⁶⁷



Esquema 2.46.

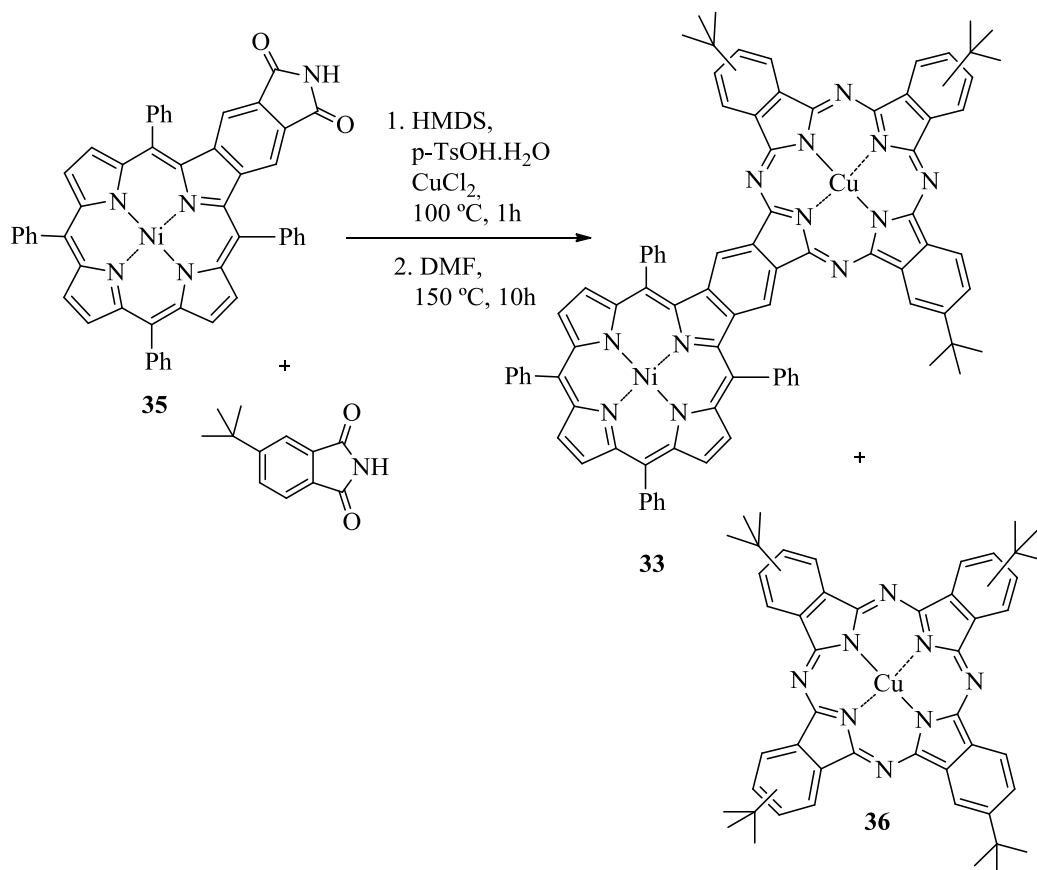
Para gerar o anidrido benzoporfirínico **15** optou-se por usar o método do anidrido acético. Esta decisão teve por base o facto de ser possível a remoção do solvente para substituição pelo solvente que promoverá a ocorrência de reação e de neste caso o reagente se encontrar em largo excesso face ao anidrido acético minimizando os efeitos de processos de acetilação decorrentes da presença do mesmo. A adição da formamida foi efetuada após evaporação a pressão reduzida do anidrido acético, tendo sido refluxada durante 1h, tempo ao fim do qual não se observou por TLC qualquer vestígio de precursor **15**, registando-se apenas a presença de um novo produto mais polar. A mistura reacional foi lavada com uma solução aquosa saturada de ácido cítrico e extraída com CH_2Cl_2 , sendo depois cromatografada numa coluna de sílica gel, usando CH_2Cl_2 como eluente. Foi recolhida a única fração presente na mistura reacional e esta foi analisada por EM e RMN.

No espectro de massa do novo composto obtido foi possível observar um pico a um valor de m/z 789, com uma unidade de massa inferior ao pico m/z 790 observado no espectro de massa do precursor anidrido, confirmando assim a obtenção da ftalimida **35** (Esquema 2.46.).

No espectro de RMN de ^1H (Fig. P2.60. do procedimento experimental) do novo produto obtido verificou-se também a existência de um sinal adicional, relativamente ao espectro da porfirimina **15**; este sinal na forma de singlete foi observado a δ 7,59 ppm e corresponde à ressonância do próton NH do anel imida.

A ftalimida **35** foi também descomplexada com sucesso, por recurso ao tratamento com a mistura $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CHCl}_3$, com obtenção do derivado **35a** (Esquema 2.46.).

Uma vez que os dados espectroscópicos estavam em conformidade com a ftalimida pretendida **35**, testou-se o procedimento descrito por Toru *et al.* para obtenção da díade **33** (Esquema 2.47.).



Esquema 2.47.

As condições reacionais gerais estão explicitadas no esquema 2.47., sendo que no fim da reação se observaram na TLC da mistura reacional três manchas distintas; a menos polar com uma coloração verde-escuro que poderia ser a díade esperada, seguida

da mancha correspondente à ftalocianina **36** e por último a mancha correspondente à ftalimida de partida **35**.

O composto de menor polaridade foi analisado por espectrometria de massa, tendo apresentado um pico a um valor de m/z 1387 correspondente ao ião $[M]^+$ da díade pretendida, que foi obtida com um rendimento de 10%.

2.4.3. Análise dos espectros de UV-vis dos derivados sintetizados

Um dos aspetos mais relevantes de um macrociclo tetrapirrólico é o seu espectro de UV-vis, pelo que a seguir se apresentam os espectros dos compostos sintetizados mais relevantes. Escolheu-se a concentração de 3 μM , uma vez que foi esta a que se mostrou mais adequada para a comparação dos derivados em questão. Agruparam-se os compostos de acordo com a sua natureza estrutural relacionando-os em cada caso com os respetivos precursores não substituídos de modo a visualizar de uma forma simples as alterações induzidas pela substituição nas posições β .

Compostos **12 e **12a****

Começou-se por comparar as diferenças observadas nos espectros de UV-vis dos macrociclos **12** e **12a** em relação aos seus precursores não substituídos **Ni-TPP** e **TPP**, respetivamente (Fig. 2.48.). De facto, a β -substituição foi responsável por desvios para a zona do vermelho tanto no caso dos complexos de níquel como nas respetivas bases livres.

O espectro do derivado **12** apresentou um desvio de ~20 nm na banda Soret e banda Q comum aos dois compostos, tendo-se também registado o aparecimento de uma nova banda Q a 590 nm no derivado substituído (Fig. 2.48.).

Em relação à base livre **12a** os desvios foram ainda mais pronunciados, com diferenças de 17-35 nm em todas as bandas, tendo a banda Soret e a banda Q de menor energia diferenças acima dos 30 nm (Fig. 2.48.).

Um dos fatores, que poderá estar na origem das diferenças registadas, é a presença de quatro grupos retiradores de eletrões no grupo em posição β . A presença de grupos retiradores de eletrões em posição β foi já descrita na literatura como um fator

determinante para o aparecimento de desvios para o vermelho nos respectivos espectros de UV-vis.⁶⁸⁻⁷¹

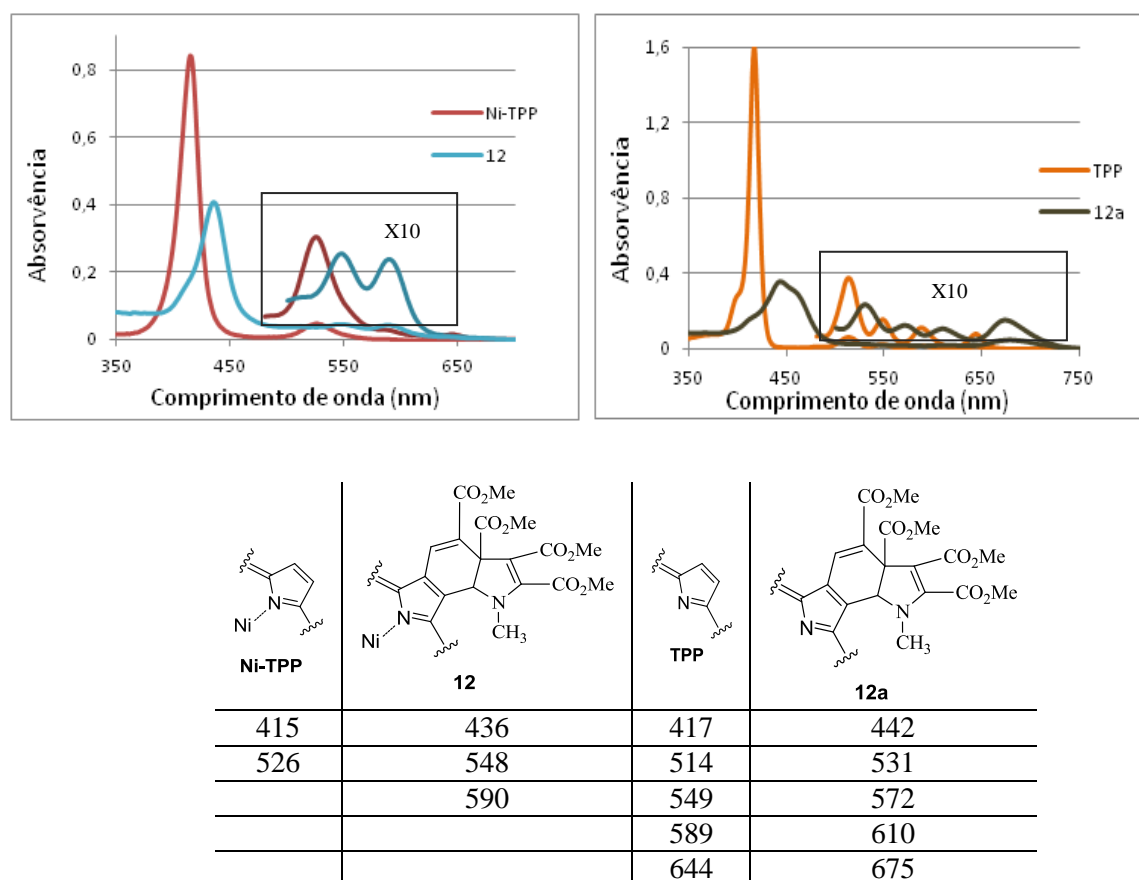
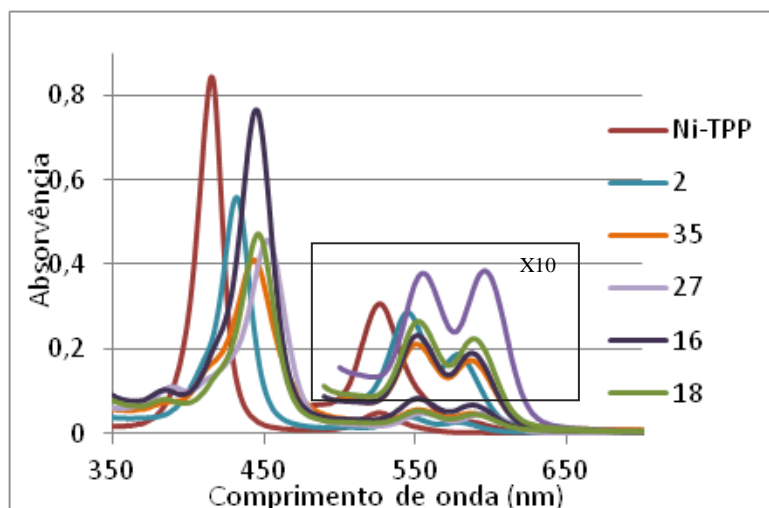


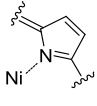
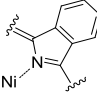
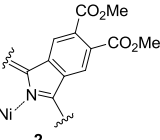
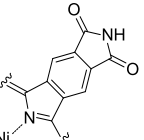
Figura 2.48. Espectros de UV-vis e respectivos máximos de absorção dos compostos **12** e **12a** (3 μ M) em CH_2Cl_2 , comparados com as referências **Ni-TPP** e **TPP**.

Ftalimidas monoméricas

Na série de ftalimidas porfíricas monoméricas sintetizadas escolheram-se, para comparação dos respectivos espectros de UV-vis, os macrociclos **35**, **16**, **18** e **27** (Fig. 2.49.) e as respectivas bases livres **35a**, **16a**, **18a** e **27a** (Fig. 2.50.).

Benzoporfirinas – Síntese e Reatividade



			
Ni-TPP	Ni-Benzo-TPP	2	35
415	426	432	443
526	542	545	550
	584	578	586

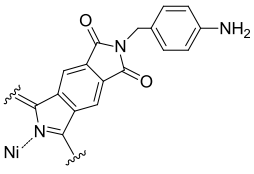
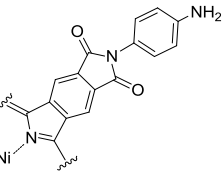
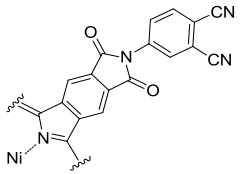
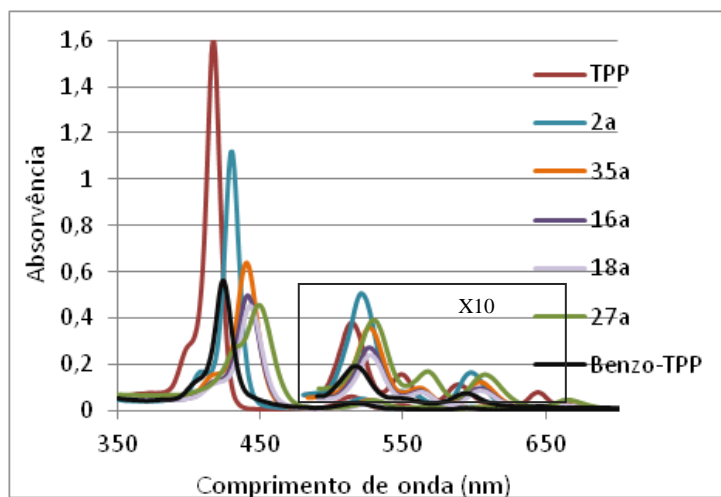
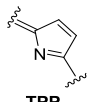
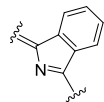
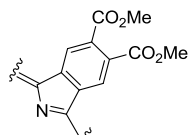
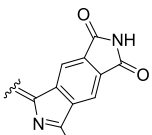
		
16	18	27
445	446	452
552	552	555
587	590	596

Figura 2.49. Espectros de UV-vis e respectivos máximos de absorção das benzoporfirinas **8**, **36**, **16** e **18** (3 μ M) em CH_2Cl_2 , comparados com as referências **Ni-TPP** e **Ni-Benzo-TPP**.

Benzoporfirinas – Síntese e Reatividade



			
TPP	Benzo-TPP	2a	35a
417	424	430	440
514	516	521	526
549	548 (ombro)	554(ombro)	561
589	594	655	603
644			662

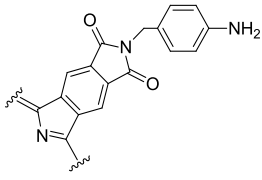
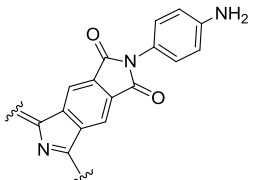
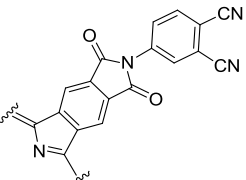
		
16a	18a	27a
441	443	449
526	527	529
562	563	567
604	604	608
662	663	665

Figura 2.50. Espectros de UV-vis e respectivos máximos de absorção das benzoporfirinas **8a**, **36a**, **16a** e **18a** (3 μM) em CH_2Cl_2 , comparados com as referências **TPP** e **Benzo-TPP**.

Desta forma é possível analisar a influência da presença do anel imida e da sua substituição comparando com as benzoporfirinas não substituídas (**Ni-Benzo-TPP** e **Benzo-TPP**)⁴⁰ e com os precursores diéster ftálico **2** e **2a**. Ainda de mencionar que serão novamente apresentadas como compostos de referência as porfirinas **Ni-TPP** e **TPP** de modo ser possível estabelecer uma relação entre a presença do grupo benzénico na porfirina e o respetivo espectro de UV-vis.

Os macrociclos foram divididos em compostos complexados e não complexados, para uma análise mais clara.

Na série de compostos complexados é visível que o aumento do sistema π da porfirina por fusão com um grupo benzénico se traduz num desvio para o vermelho no espectro de UV-vis, de 11 nm na banda Soret e de 16 nm na banda Q comum aos macrociclos **Ni-TPP** e **Ni-Benzo-TPP** e no aparecimento de uma banda Q a 584 nm.

A substituição do anel benzénico com dois grupos retiradores de eletrões (BP **2**) significou um desvio menos acentuado de 6 nm no caso da banda Soret, não existindo um padrão de desvios no caso das bandas Q, quando comparado com a **Ni-Benzo-TPP**.

Contudo a presença do anel imida fundido no grupo benzénico da porfirina (BP **35**) foi responsável por desvio de 17 nm da banda Soret e de desvios 2-8 nm nas duas bandas Q, em relação à benzoporfirina não substituída.

As alterações nos máximos de absorção, consoante o grupo substituinte do átomo de azoto do anel imida, foram variáveis.

Os desvios batocrómicos das ftalimidas **16** e **18**, em comparação com a porfirina **35** foram de apenas 0-4 nm.

No entanto, a presença do grupo ftalonitrilo no composto **27** foi responsável por desvios entre 5-10 nm em todas as bandas, mostrando a importância da *N*-substituição do grupo ftalimida na absorção do macrociclo porfirínico.

Na série de derivados não complexados, observam-se alguns comportamentos distintos dos presenciados para os compostos complexados, designadamente quando analisada a influência do aumento do sistema π do macrociclo por fusão de um anel benzénico na posição β -pirrólica. Apesar de se registar um desvio batocrómico na banda Soret e numa banda Q da **Benzo-TPP** de 5-7 nm, as restantes bandas não demonstraram

qualquer alteração significativa. Mais ainda, a **Benzo-TPP** apenas possui três bandas Q, não existindo nenhuma banda análoga ao máximo a 644 nm da **TPP**.

Todavia, a presença dos dois grupos éster no composto **2a** induziu diferenças notórias relativamente à BP não substituída. Apesar do desvio batocrômico de apenas 6 nm na banda Soret, registaram-se alterações evidentes nas bandas Q, com a banda de menor energia a surgir com uma diferença de 61 nm.

Foi também evidente a influência da presença do anel imida do macrociclo **35a** na absorção na gama do visível de compostos do tipo MonoBP. Quando comparada com a **Benzo-TPP**, a ftalimida porfirínica **35a** apresentou desvios batocrômicos entre 9-16 nm, tendo-se também registado o aparecimento de uma quarta banda Q de menor energia.

Neste caso verificaram-se também alterações nos espectros de UV-vis, quando o azoto do grupo ftalimida se encontrou substituído, embora não apresentando discrepâncias muito pronunciadas. O efeito mais notório foi observado no caso do composto **27a**, mostrando a importância da presença do grupo ftalonitrilo no espectro de absorção de uma ftalimida porfirínica. O espectro de UV-vis da porfirina **27a** apresentou desvios para a região do vermelho de 2-9 nm em todas as bandas de absorção quando comparada com a ftalimida **35a**. No caso dos compostos **16a** e **18a**, não ocorreram alterações em todas as bandas de absorção, sendo que o maior desvio observado em ambos os compostos foi de 3 nm.

Compostos 23, 26, 23a e 26a

Os espectros dos compostos **23** e **26** e as respetivas bases livres **23a** e **26a**, apresentaram também modificações significativas relativamente às correspondentes benzoporfirinas não substituídas (Fig. 2.51.).

No caso das porfirinas complexadas, os desvios batocrômicos foram de 11-27 nm para o composto **23** e 12-21 nm para o composto **26**, sendo que em todas as bandas de absorção se verificaram alterações.

Benzoporfirinas – Síntese e Reatividade

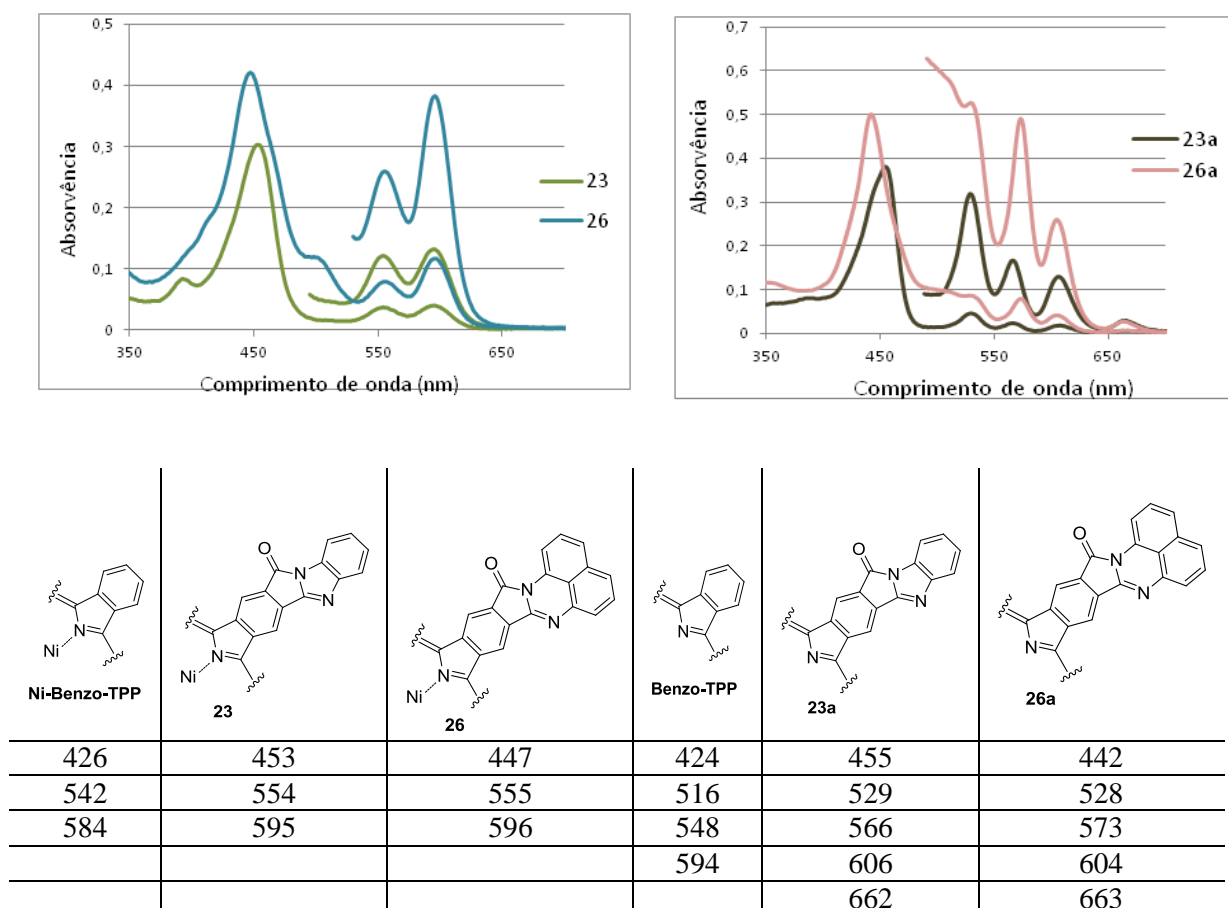


Figura 2.51. Espectros de UV-vis e respectivos máximos de absorção das benzoporfirinas **23**, **23a**, **26** e **26a** (3 μ M) em CH_2Cl_2 , comparados com as referências **Ni-Benzo-TPP** e **Benzo-TPP**.

Na série de macrociclos descomplexados as diferenças em relação à respetiva BP não substituída são também evidentes, observando-se desvios de 12-31 nm no caso da porfirina **23a** e 10-25 nm no caso da porfirina **26a**. Registou-se também o aparecimento de uma nova banda de absorção a ~662 nm nos dois compostos.

Dímeros **20** e **20a**

Da série de dímeros porfirínicos obtidos escolheram-se os compostos **20** e **20a** para análise dos espectros de UV-vis, pois apenas nesta série foi possível a caracterização de ambos os derivados complexado e não complexado. Também neste caso a comparação foi efetuada com a ftalimida não substituída **35** e **35a** (Fig. 2.52.).

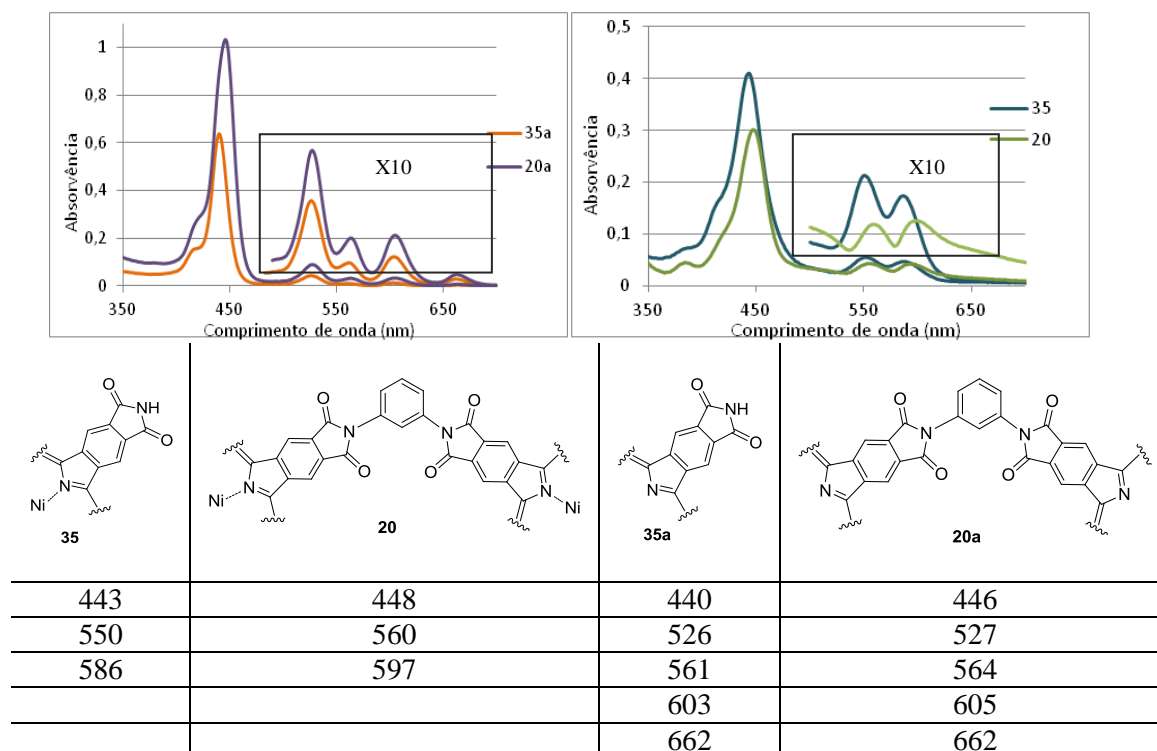


Figura 2.52. Espectros de UV-vis e respetivos máximos de absorção dos dímeros **20** e **20a** (3 μ M) em CH_2Cl_2 , comparados com as referências **35** e **35a**.

No entanto, neste caso há um aspeto importante a ressaltar. O dímero **20** apresentou um grau de agregação elevado quando comparado com o seu derivado não complexado **20a**, facto que foi claramente observado devido à ausência de linearidade na relação absorvência/concentração a concentrações de porfirina **20** superiores a 10 μ M e absorvência menor que 1 (Fig. 2.53.).

Relativamente aos máximos de absorção dos dímeros **20** e **20a** em comparação com os seus precursores **35** e **35a**, respetivamente, observaram-se algumas alterações moderadamente acentuadas. A ftalimida dimérica complexada apresentou desvios batocrómicos de 5-11 nm em todas as bandas de absorção, ao contrário do seu derivado descomplexado cujo desvio máximo (6 nm) foi exibido pela banda Soret.

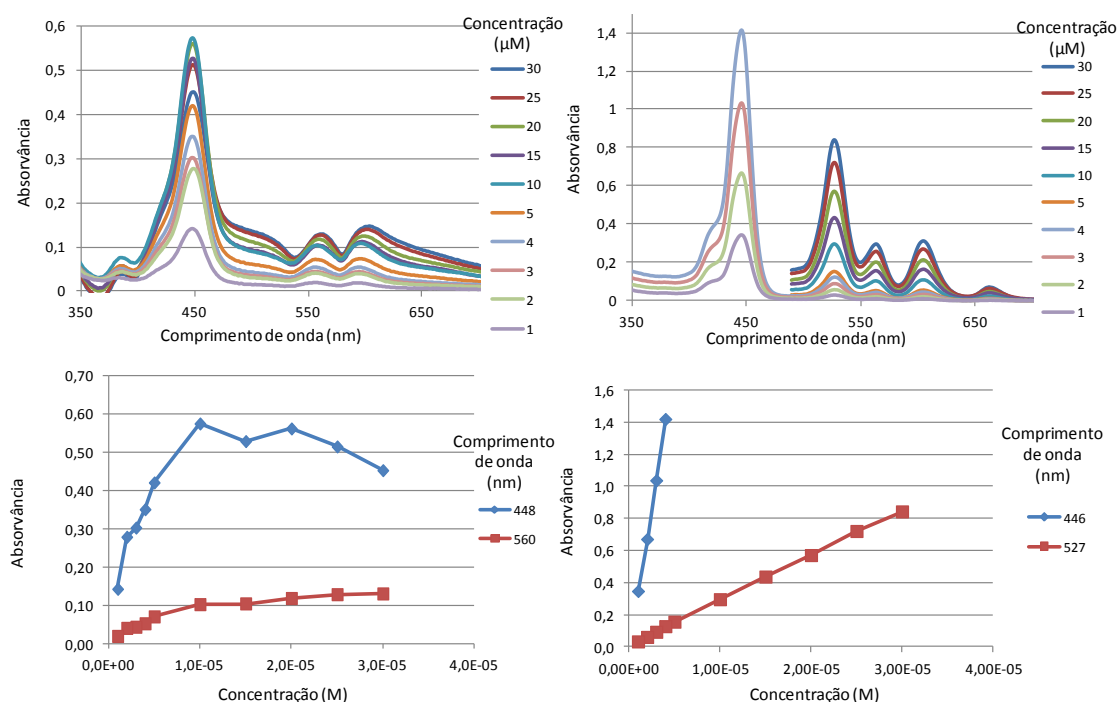


Figura 2.53. Espectros de UV-vis dos dímeros **20** e **20a** a diferentes concentrações em CH_2Cl_2 , e respetiva relação absorvância/concentração para a banda Soret e banda Q de maior energia.

Díades 28 e 28a

Foi também observada mais em pormenor a influência da presença de um macrociclo tetrapirrólico substituído no átomo de azoto da unidade de ftalimida (compostos **28** e **28a**) nos espectros de UV-vis (Fig. 2.54.). Compararam-se os espectros obtidos com os dos seus precursores **TPP**, **35** e **35a**.

No grupo dos compostos complexados não ocorreram alterações significativas, sendo o espectro da nova díade obtida uma junção dos espectros dos seus precursores. O mesmo se verificou para a díade totalmente descomplexada.

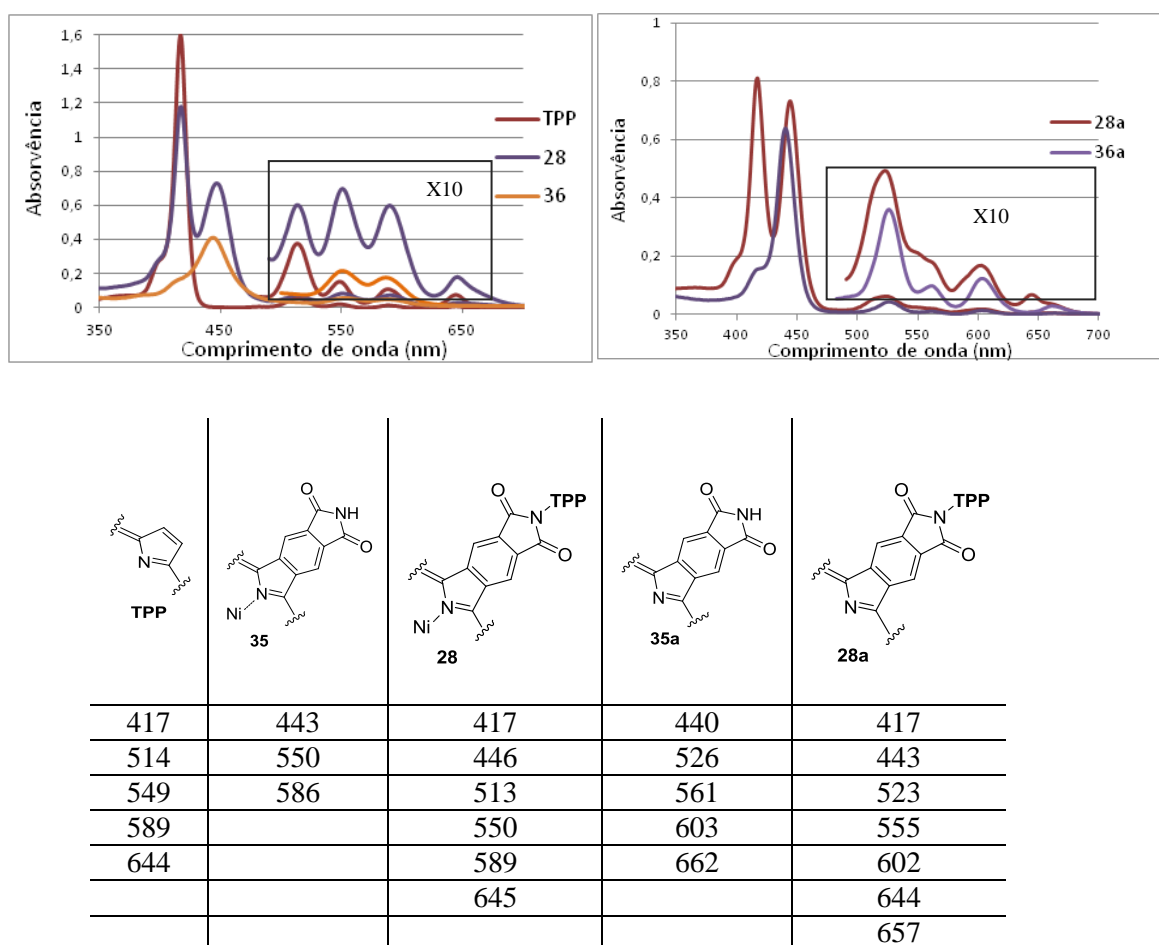


Figura 2.54. Espectros de UV-vis e respectivos máximos de absorção das benzoporfirinas **28** e **28a** (3 μ M) em CH_2Cl_2 , comparados com as referências **TPP** e **35** e **35a**, respetivamente.

Díade 33

Por fim, analisou-se o espectro de UV-vis da díade **33**, comparando com as suas unidades constituintes: porfirina **Ni-TPP** e ftalocianina **36** (Fig. 2.55.).

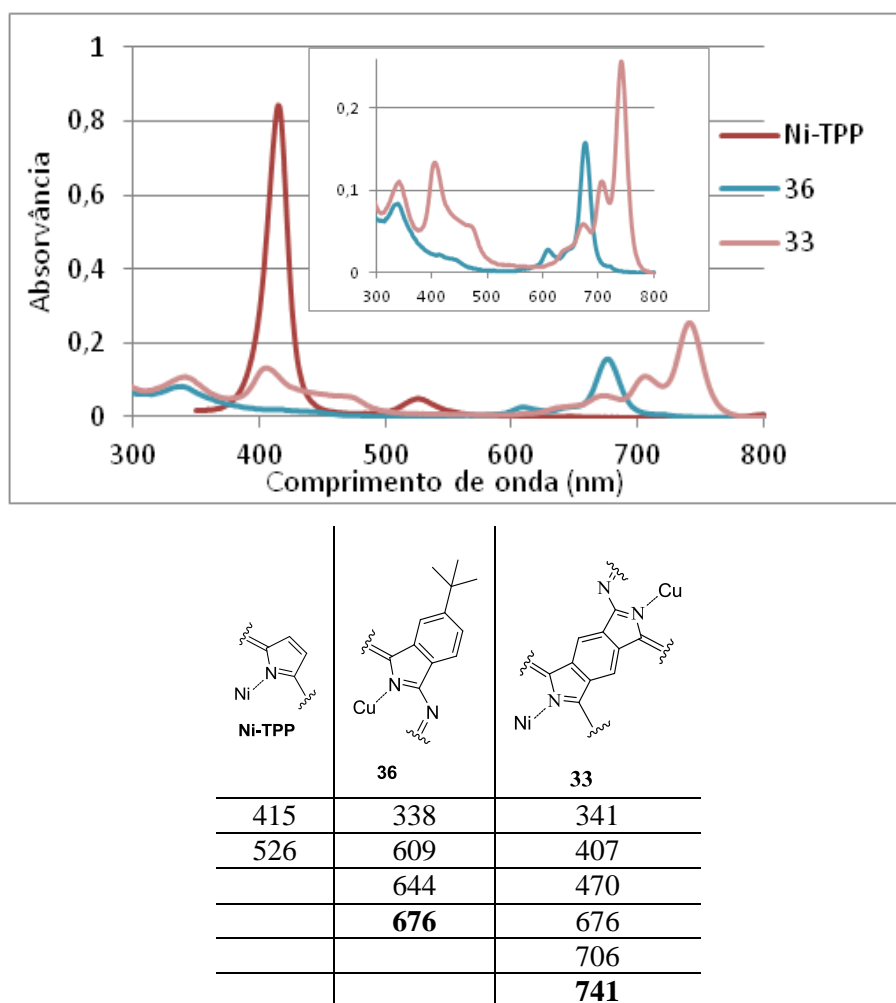


Figura 2.55. Espectro de UV-vis e respetivos máximos de absorção da díade **34a** (3 μ M) em CH_2Cl_2 , comparado com as referência **Ni-TPP** e **Cu-Pc**.

O espectro de UV-vis da nova díade porfirina-ftalocianina é composto pelas bandas características que cada um dos seus componentes macrocíclicos apresenta por si só (Fig. 2.55.). Contudo, a banda Q de menor energia da ftalocianina **36** aparece a 676 nm, enquanto que o correspondente máximo de absorção do novo sistema **33** é registado a 741 nm. Este notável desvio batocrómico, poderá ter origem no alargamento do sistema π conjugado dos dois resíduos constituintes da díade.

Ainda de referir, que devido à presença do átomo de cobre na molécula não foi possível a caracterização por RMN do composto obtido. O espectro de UV-vis veio

desta forma contribuir, em adição ao espectro de massa, para a confirmação da estrutura proposta.

2.4.4. Conclusões

O trabalho descrito neste capítulo permitiu concluir que a pirroloporfirina **1** reage com o DMAD, através de uma reação do tipo cicloadição [4+2] originando o composto **12** em rendimento quantitativo. Este composto pode ser facilmente convertido, por aquecimento, na BP **2** com um rendimento satisfatório de 53%. Desta forma a porfirina **2** pode ser preparada a partir do macrociclo **1**, à semelhança do que foi já descrito na literatura por Smith e colaboradores com a pirroloporfirina **3**.

O diéster **2** pode ser facilmente hidrolisado em meio básico originando o diácido **14** em excelente rendimento (90%). Esta BP pode ser convertida, por aquecimento, no respetivo anidrido ftálico **15** em rendimento quantitativo.

A BP **15** é uma notável plataforma para a obtenção de diferentes derivados por reação com aminas.

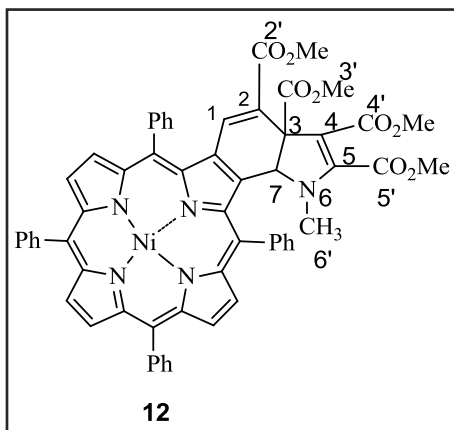
O anidrido ftálico **15** pode reagir com benzilaminas, como a 4-aminobenzilamina e a 4-(aminometil)piridina, originando as respetivas ftalimidas benzílicas **16** e **17** em rendimentos quantitativos. O mesmo precursor pode reagir com a benzeno-1,4- e benzeno-1,3-diamina originando os respetivos dímeros **19** (12%) e **20** (19%), respetivamente. No entanto, a benzeno-1,2-diamina e a naftaleno-1,8-diamina não permitem a obtenção dos respetivos dímeros, por reação com o anidrido **15**; formam-se os compostos **23** (30%) e **26** (36%), respetivamente. A BP **15** reage também com o 4-aminofaltonitrilo com obtenção do ftalonitrilo **27** em rendimento satisfatório (62%). Com relação à reatividade com aminas porfirínicas, é de destacar que a ocorrência de reação se relaciona fortemente com a posição do grupo amino na porfirina; se o grupo amino se encontrar em posição *meso* ocorre formação da díade **28** com um bom rendimento (62%); se o grupo amino se encontrar em posição β a reação não ocorre, provavelmente devido a impedimento estérico.

O anidrido ftálico **15** é também um ótimo precursor para a formação da ftalimida não substituída **35**, que se forma em rendimento quantitativo. Esta nova ftalimida constitui uma boa plataforma para a obtenção de híbridos porfirina-ftalocianina, nomeadamente a díade **33**.

Benzoporfirinas – Síntese e Reatividade

Resta apenas referir que o trabalho descrito neste capítulo foi dividido em duas partes distintas para publicação na literatura científica: i) as reações de preparação e reatividade do anidrido ftálico **15** com aminas aromáticas e ii) obtenção da díade porfirina-ftalocianina fundida, encontrando-se os dois artigos em fase de preparação.

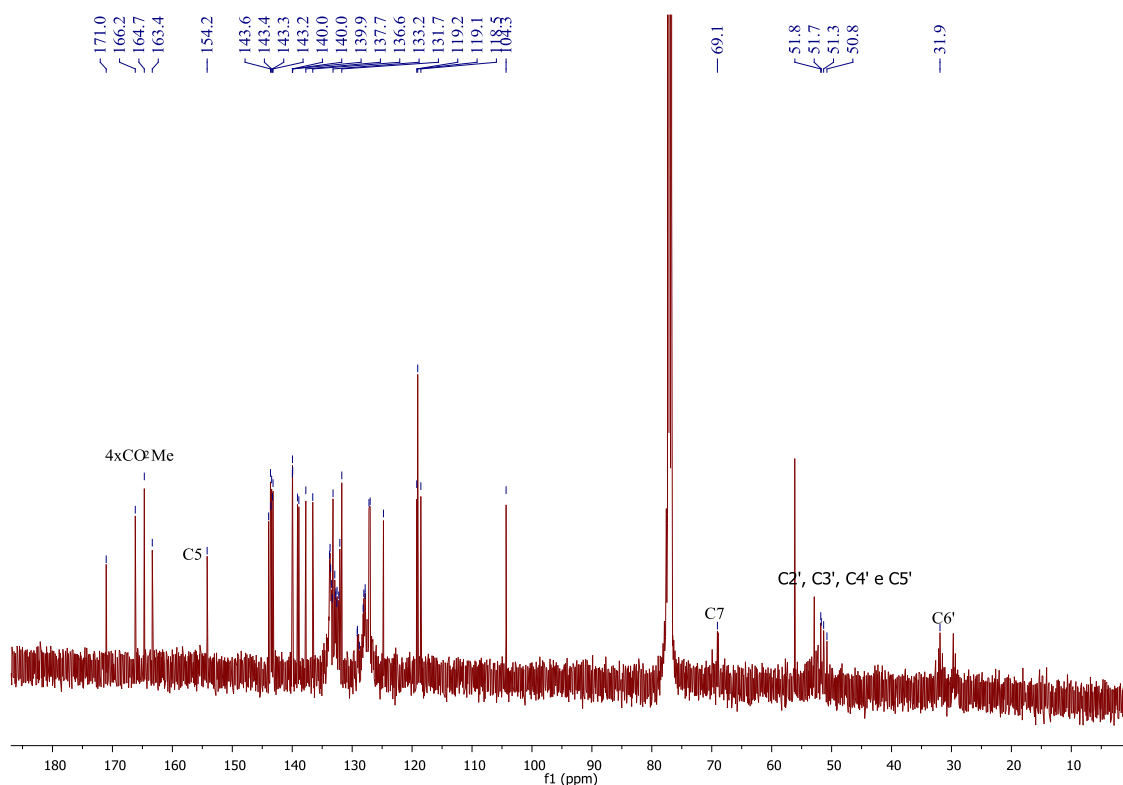
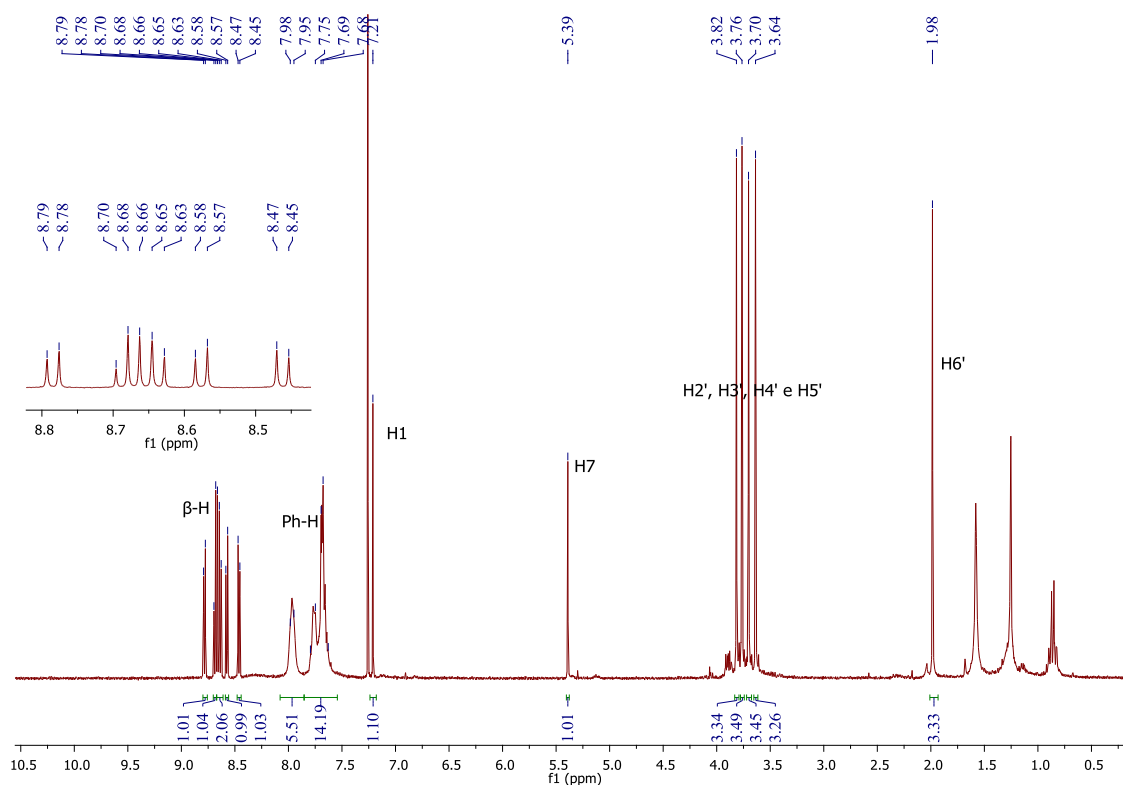
2.4.5. Procedimentos Experimentais

Síntese do composto **12**

A uma solução de pirroloporfirina **1** (500,0 mg, 0,691 mmol) em tolueno (30 mL) foi adicionado um largo excesso de DMAD (500 μ L). A mistura foi mantida em refluxo, sob agitação, durante 1 hora. Ao fim deste tempo não se observou material de partida por TLC. A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente e o solvente foi evaporado a pressão reduzida. O produto **12** foi precipitado em

$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EP}$, tendo sido obtido, quantitativamente, na forma de um sólido vermelho escuro.

12: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 1,98 (s, 3H, $\text{H}_{6'}$); 3,64; 3,70; 3,76; 3,82 (4s, 4x3H; $\text{H}_{2'}$, $\text{H}_{3'}$, $\text{H}_{4'}$ e $\text{H}_{5'}$); 5,39 (s, 1H, H_7); 7,21 (s, 1H, H_1); 7,63-7,79 (m, 14H, Ph-H) 7,95-7,98 (m, 6H, Ph-H); 8,46 (d, 1H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,1$ Hz); 8,58 (d, 1H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,1$ Hz); 8,64 (d, 1H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,1$ Hz); 8,67 (d, 1H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,0$ Hz, 1H); 8,69 (d, 1H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,0$ Hz, 1H); 8,78 (d, 1H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,1$ Hz); **RMN de ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3): δ 31,9 ($\text{C}_{6'}$); 50,8; 51,3; 51,7 e 51,8 ($\text{C}_{2'}$, $\text{C}_{3'}$, $\text{C}_{4'}$ e $\text{C}_{5'}$); 69,05 (C_7); 104,3; 118,5; 119,1; 119,2; 124,8; 127,0; 127,2; 127,8; 127,9; 128,1; 128,2; 128,8; 129,1; 129,2; 131,7; 132,1; 132,2; 132,5; 132,6; 132,71; 132,75; 132,9; 133,2 (C_1); 133,3; 133,4; 133,6; 133,7; 133,8; 136,6; 137,7; 138,9; 139,1; 139,9; 139,96; 139,97; 143,2; 143,3; 143,4; 143,55; 143,63; 143,9; 154,1; 154,2; 163,4, 164,7, 166,2 e 171,0 (4x CO_2Me); **HRMS (ESI)**: $m/z = 1007,2458$ (calcd. $[\text{M}]^{+}$ 1007,2460). **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 436 (5,18); 548 (4,08); 590 (4,05).



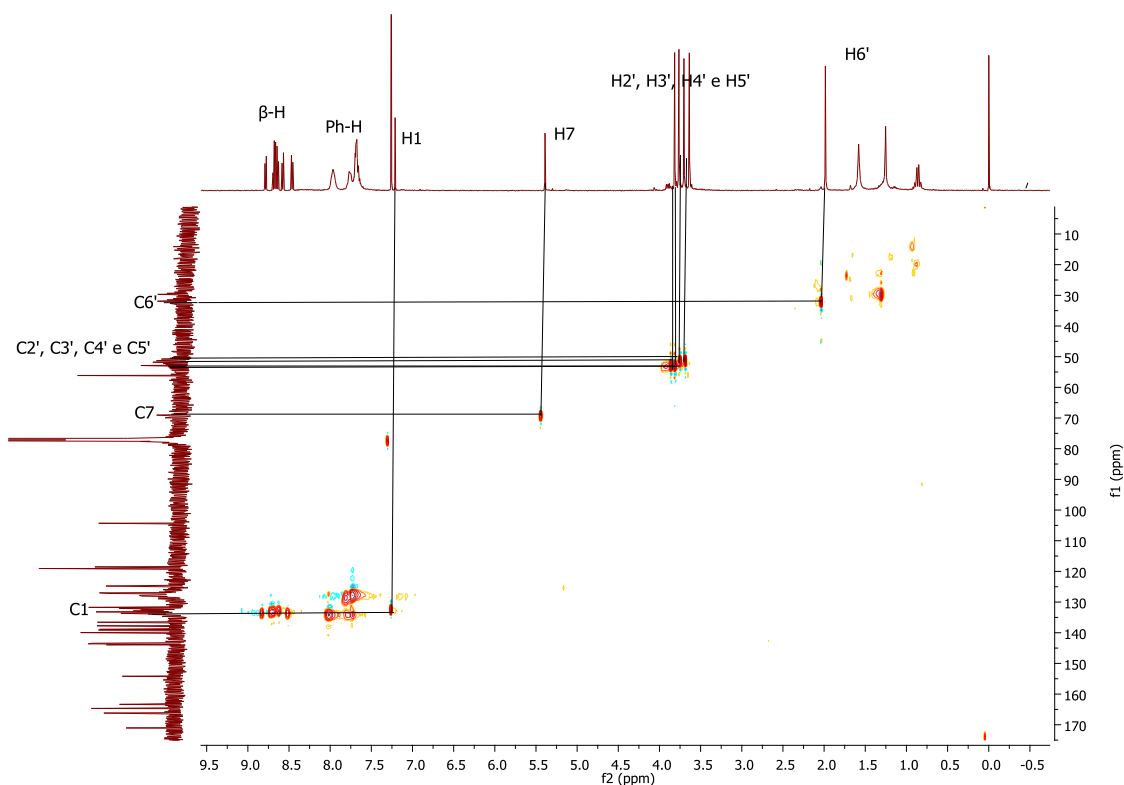
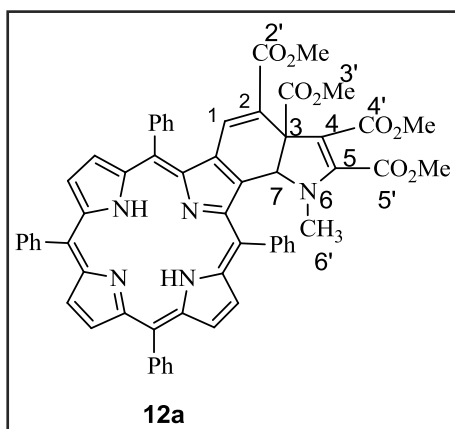


Figura P2.3. Espectro de HSQC do composto **12**.

Síntese do composto **12a**



Uma solução de composto **12** (10,0 mg) em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{SO}_4$ (9:1) (1 mL), foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO_3 e extraída com CH_2Cl_2 . O solvente foi evaporado até à secura e o produto **12a** foi cristalizado em CH_2Cl_2 /éter de petróleo tendo sido obtido quantitativamente.

12a: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ -2,43 (s, 2H, NH); 1,93 (s, 3H, $\text{H6}'$); 3,68; 3,72; 3,74; 3,88 (4s, 4x3H; $\text{H2}'$, $\text{H3}'$, $\text{H4}'$ e $\text{H5}'$); 5,31 (s, 1H, H7); 7,25 (s, 1H, H1); 7,72-7,88 (m, 12H, Ph-H); 8,03-8,40 (m, 8H, Ph-H); 8,65-8,85 (m, 6H, β -H); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 31,6 ($\text{C6}'$); 51,2; 51,3; 52,7 e 56,1 ($\text{C2}'$, $\text{C3}'$, $\text{C4}'$ e $\text{C5}'$); 68,2 (C7); 104,2; 120,1; 120,2; 120,5; 123,1; 125,4; 126,6; 126,9; 127,9; 128,4; 128,9;

131,8; 132,5; 134,7; 135,0; 140,5; 141,4; 141,6; 141,7; 148,5; 152,7; 154,5; 163,4, 164,7, 166,2 e 171,2 (4xCO₂Me); **HRMS (ESI):** m/z = 952,3295 (calcd. [M+H]⁺ 952,3341); **UV-vis** (CHCl₃) λ_{max} (log ϵ) 442 (5,06); 531 (4,07); 572 (3,80); 610 (3,73); 675 (3,87).

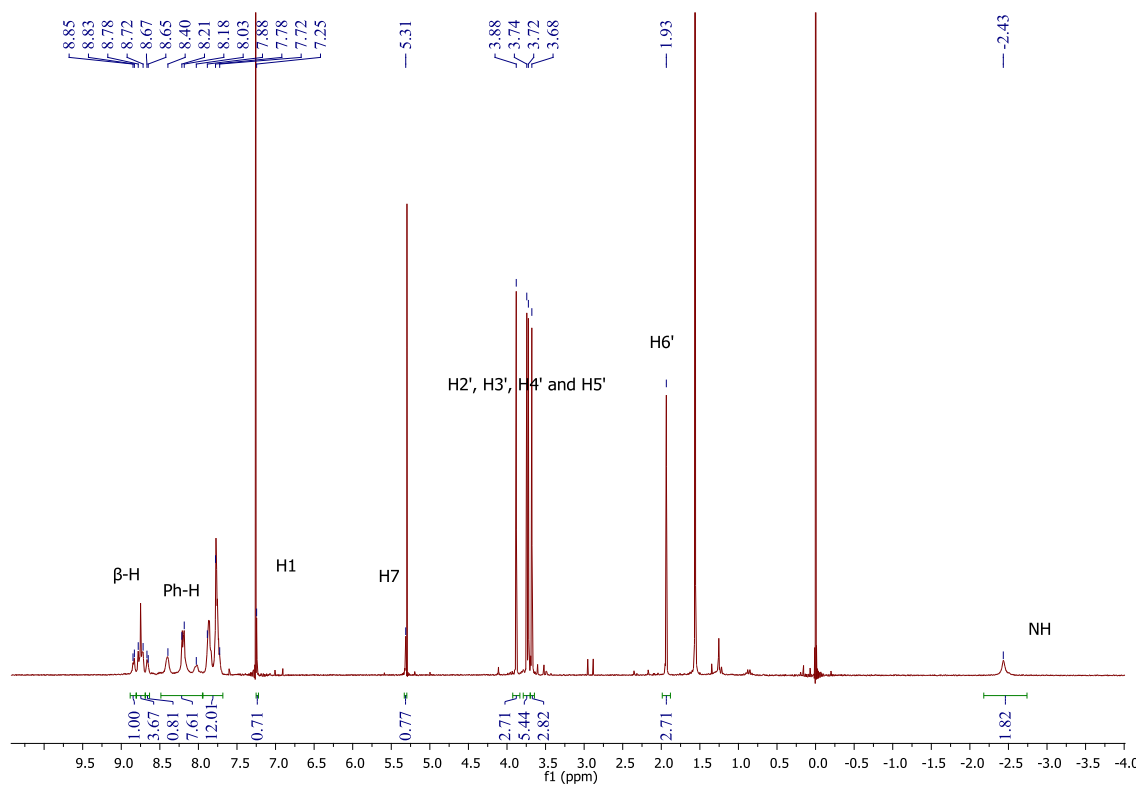


Figura P2.4. Espectro de RMN de ¹H do composto **12a**.

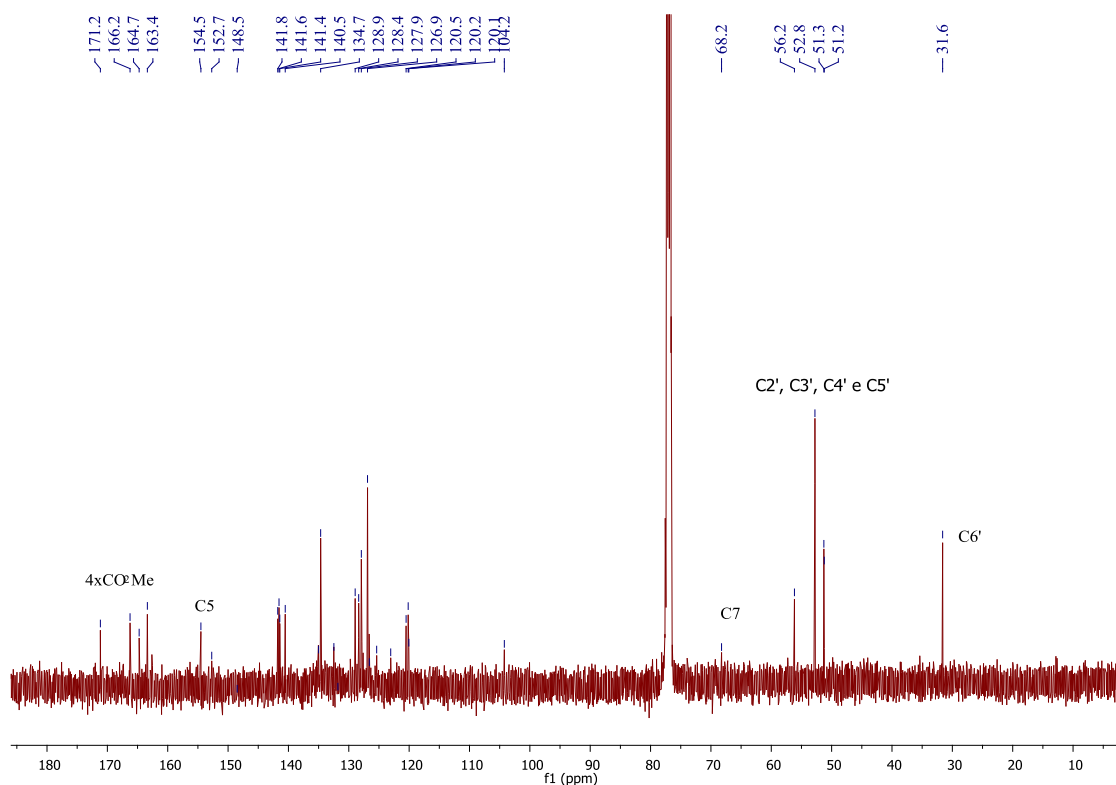
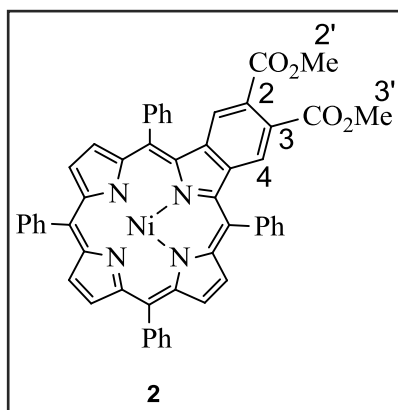


Figura P2.5. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **12a**.

Síntese da benzoporfirina **2**



Uma solução de composto **12** (40,0 mg, 39,7 μmol) em 1,2,4-TCB (5 mL) foi mantida em refluxo, sob agitação, durante 48 horas. Após este tempo não foi observado material de partida em TLC. Após arrefecimento até à temperatura ambiente, a mistura reacional foi submetida a cromatografia em coluna em sílica gel, utilizando, pela seguinte ordem, os eluentes: EP (para remover o 1,2,4-TCB) e CH_2Cl_2 . A primeira fração recolhida foi identificada como sendo o produto **2**. Esta fração, após evaporação do solvente a pressão reduzida, foi cristalizada em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EP}$ (17,6 mg, 53%).

2: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 3,87 (s, 6H, H2',3'); 7,39 (s, 2H, H1,4); 7,66-7,85 (m, 12H, Ph-H); 7,90-7,99 (m, 8H, Ph-H); 8,67-8,74 (m, 6H, β -H); **HRMS (ESI)**: m/z = 836,1948 (calcd. $[\text{M}]^+$ 836,1928); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 432 (5,27); 545 (4,16); 578 (3,97).

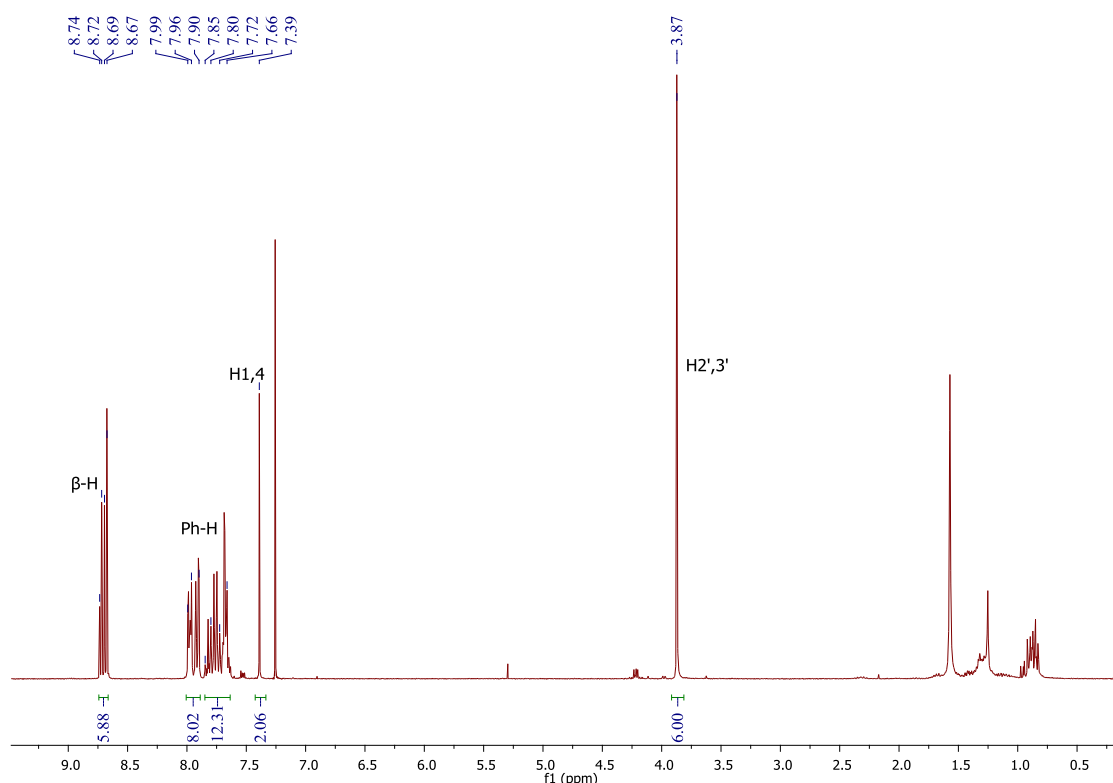
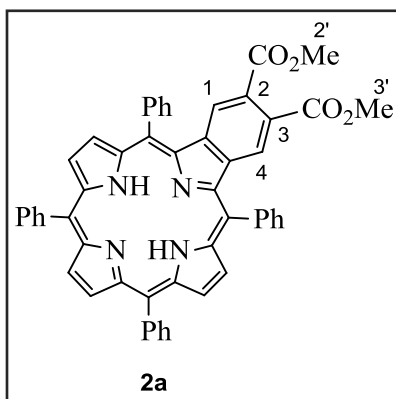


Figura P2.6. Espectro de RMN de ^1H do composto **2**.

Síntese da benzoporfirina **2a**



Uma solução de composto **2** (10,0 mg) em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{SO}_4$ (9:1) (1 mL), foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO_3 e extraída com CH_2Cl_2 . O solvente foi evaporado até à secura e o produto **2a** foi cristalizado em CH_2Cl_2 /éter de petróleo tendo sido obtido quantitativamente (9,3 mg).

2a: RMN de ^1H (300.13 MHz; CDCl_3): δ -2,67 (s, 2H, NH); 3,90 (s, 6H, $\text{H}_{2',3'}$); 7,39 (s, 2H, $\text{H}_{1,4}$); 7,75-7,93 (m, 12H, Ph-H); 8,17-8,23 (m, 8H, Ph-H); 8,71 (s, 2H, β -H); 8,87 (d, 2H, β -H, $J = 5,0$ Hz); 8,91 (d, 2H, β -H, $J = 5,0$ Hz); **RMN de ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3): δ 52,4 ($\text{C}_{2',3'}$); 118,0; 121,3; 125,9; 126,8; 127,86; 127,90; 128,1; 128,5; 129,0; 133,7; 134,1; 134,5; 141,7; 142,0; 143,1; 168,5 (CO_2Me); **HRMS (ESI)**: $m/z = 781,2790$ (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+$ 781,2809); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 430 (5,53); 521 (4,40); 554 (3,60) (ombro); 655 (3,04).

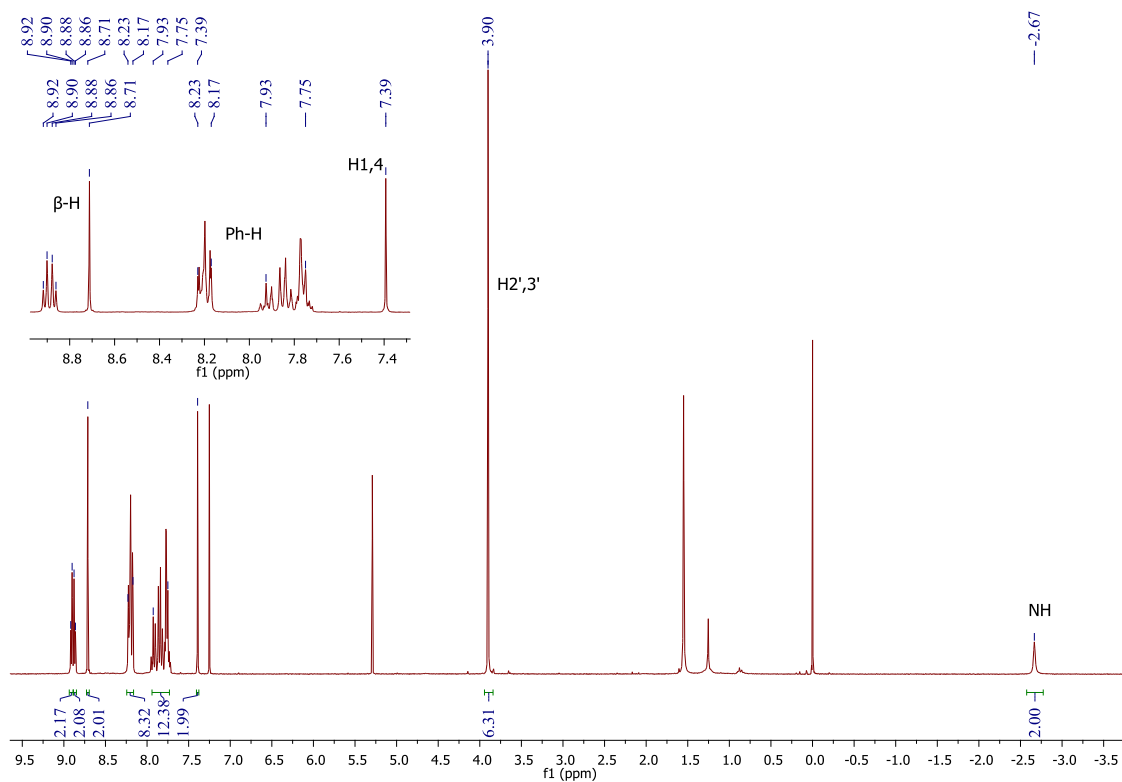


Figura P2.7. Espectro de RMN de ^1H do composto **2a**.

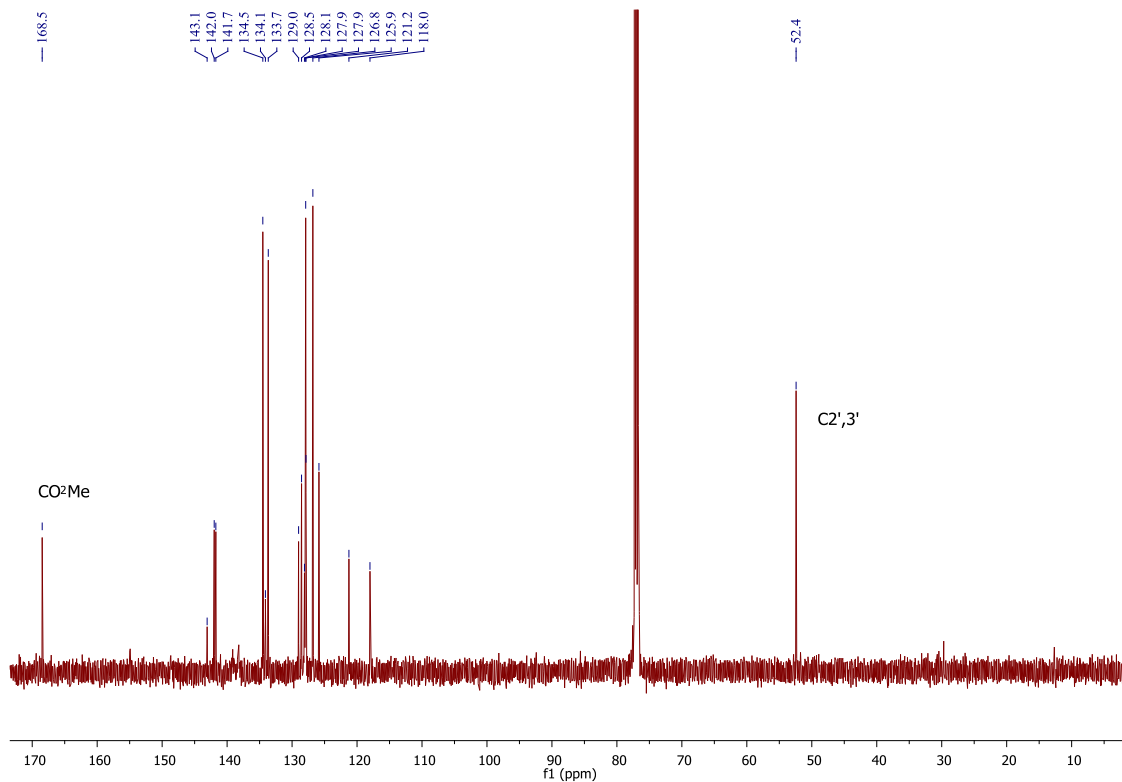
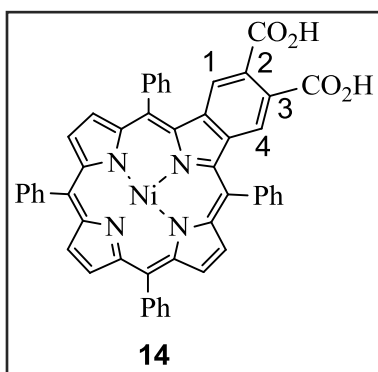


Figura P2.8. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **2a**.

Síntese do ácido ftálico **14**



A uma solução de composto **2** (35,0 mg; 41,9 μmol) em THF (2 mL) e piridina (150 μL) foi adicionada uma solução de KOH (550,0 mg) em MeOH (7,5 mL). A mistura reacional foi mantida em refluxo, sob agitação, durante 48 horas. Após este tempo não foi observado material de partida em TLC. A mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente, neutralizada com solução

aquosa saturada de ácido cítrico e extraída com CH_2Cl_2 . A mistura reacional foi submetida a cromatografia em coluna em sílica gel, utilizando, pela seguinte ordem, os eluentes: CH_2Cl_2 (para retirar frações minoritárias) e $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9,5:0,5) (para retirar a fração maioritária que foi identificada como sendo o produto **14**). O produto **14**, após evaporação do solvente a pressão reduzida, foi precipitado em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EP}$ e obtido na forma de sólido vermelho escuro (30,5 mg; 90%).

14: RMN de ^1H (300 MHz; DMSO- d_6): δ 7,39 (s largo, 2H, H1,4); 7,74-7,86 (m, 12H, Ph-H); 7,93-7,99 (m, 8H, Ph-H); 8,70-8,75 (m, 6H, β -H); **RMN de ^{13}C** (125 MHz, DMSO- d_6): δ 116,0; 120,4; 127,6; 128,5; 129,2; 132,5; 132,6; 133,0; 133,4; 133,9; 136,7; 139,3; 139,5; 141,1; 141,2; 142,0; 143,7; 168,9 (CO_2H); **HRMS (ESI)**: m/z = 808,1623 (calcd. $[\text{M}]^+$ 808,1615).

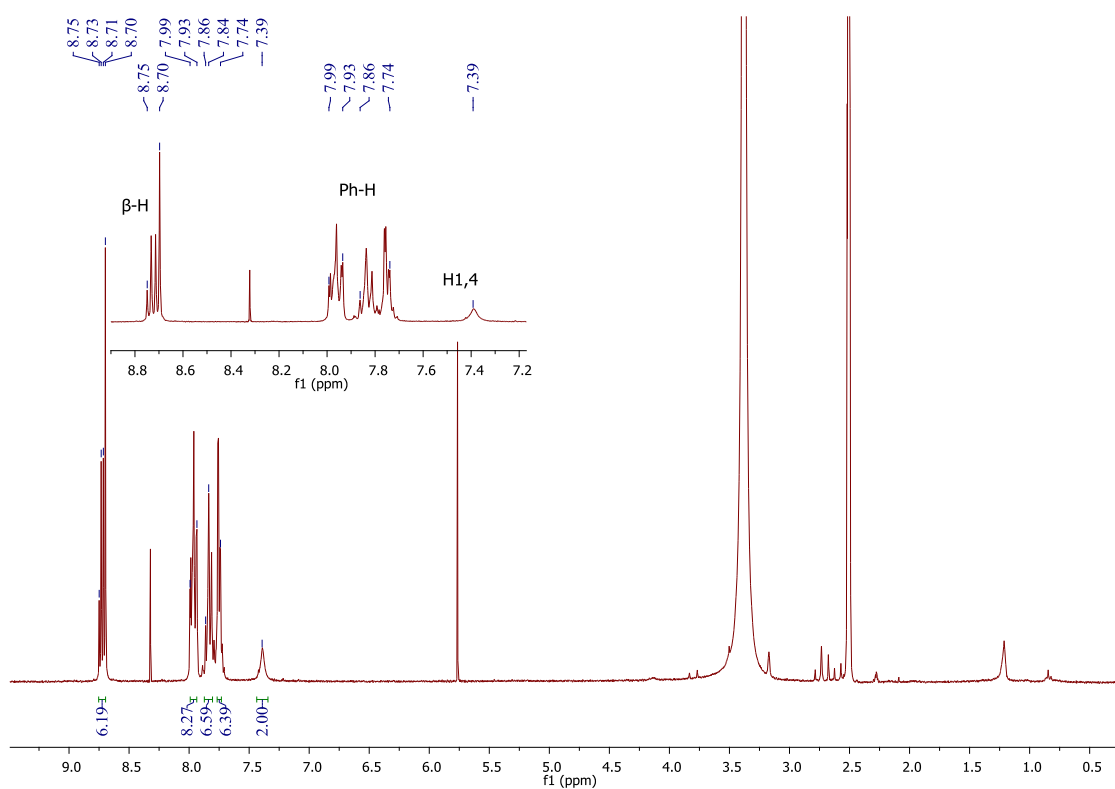


Figura P2.9. Espectro de RMN de ^1H do composto **14** em DMSO- d_6 .

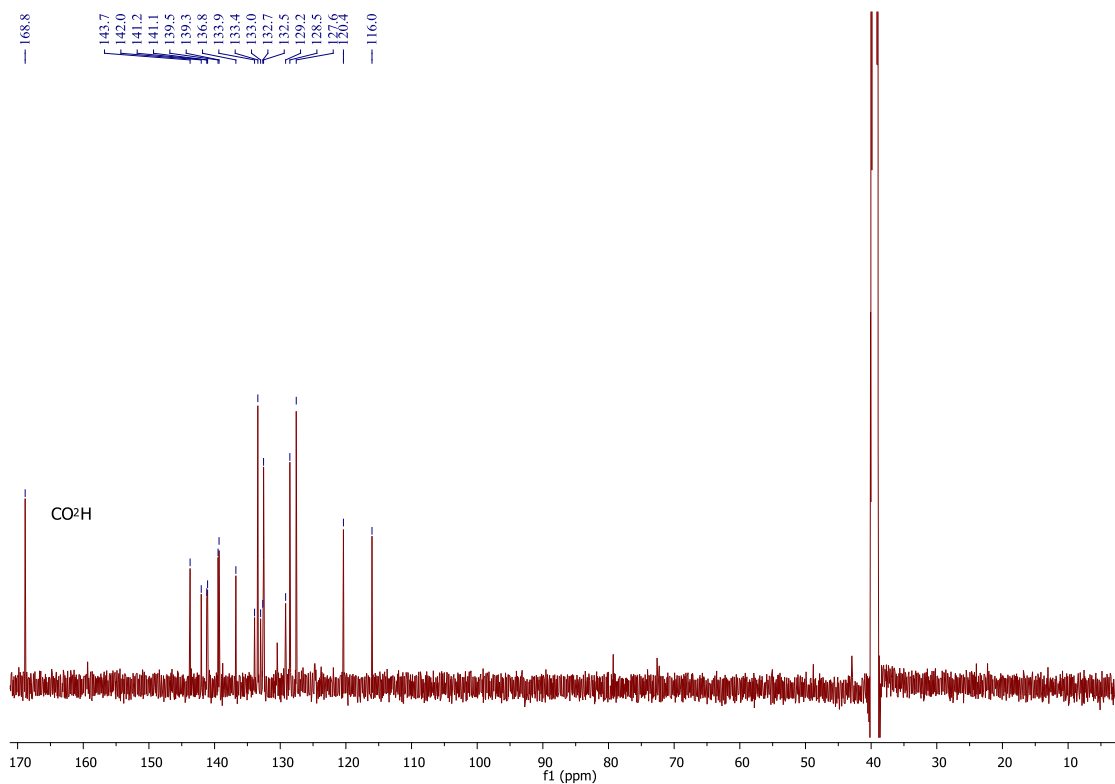
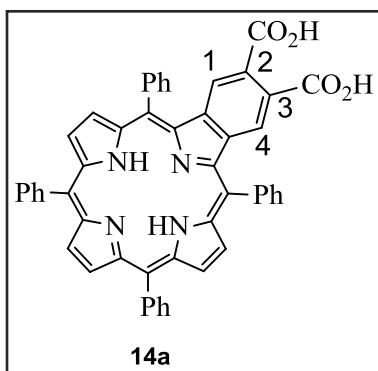


Figura P2.10. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **14** em DMSO- d_6 .

Síntese do ácido ftálico **14a**



Uma solução de composto **14** (10,0 mg) em CH₂Cl₂/H₂SO₄ (9:1) (1 mL), foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO₃ e extraída com CH₂Cl₂. O solvente foi evaporado até à secura e o produto **14a** foi cristalizado em CH₂Cl₂/éter de petróleo tendo sido obtido com um rendimento de 98% (9,1 mg).

14a: RMN de ¹H (300,13 MHz; DMSO-d₆): δ -2,77 (s, 2H, NH); 7,60 (s largo, 2H, H1,4); 7,83-7,96 (m, 12H, Ph-H); 8,20-8,24 (m, 8H, Ph-H); 8,65 (s, 2H, β-H); 8,84 (d, 2H, β-H, *J* = 5,1 Hz); 8,94 (d, 2H, β-H, *J* = 5,1 Hz); **RMN de ¹³C** (125 MHz, DMSO-d₆): δ 118,1; 121,3; 127,4; 128,4; 128,5; 129,3; 133,4; 134,4; 141,1; 141,4; 142,3; 169,0 (CO₂H); **HRMS (ESI)**: *m/z* = 753,2486 (calcd. [M+H]⁺ 753,2496).

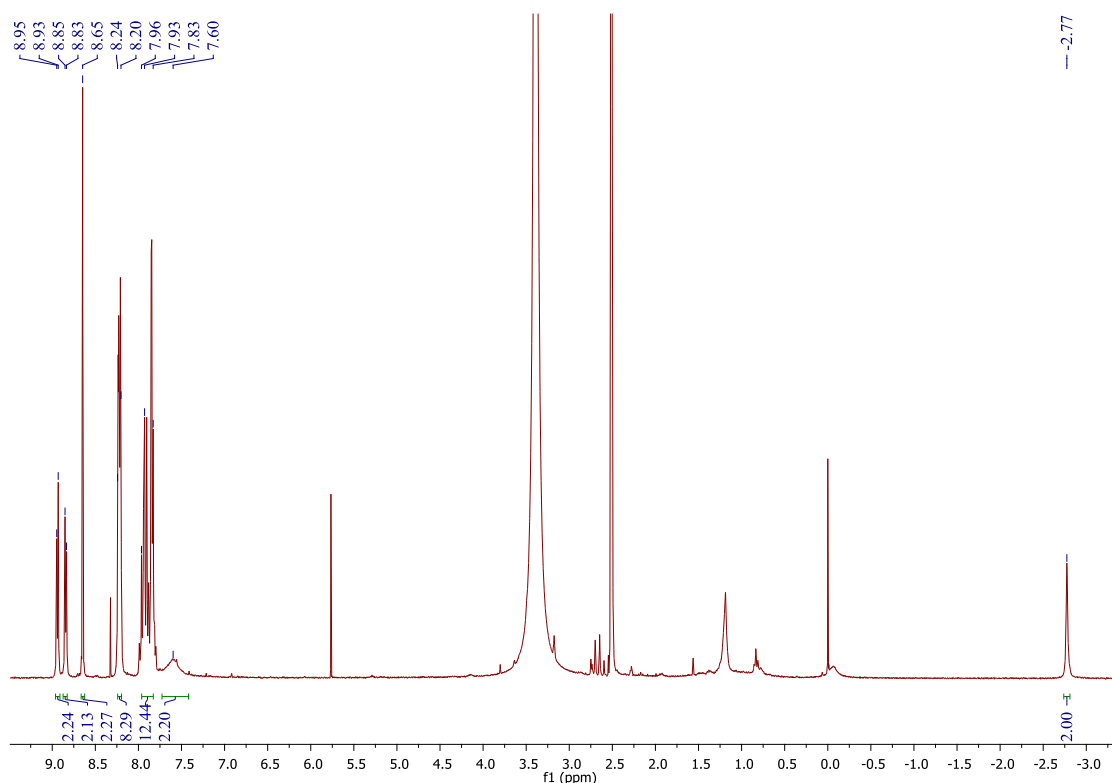


Figura P2.11. Espectro de RMN de ¹H do composto **14a** em DMSO-d₆.

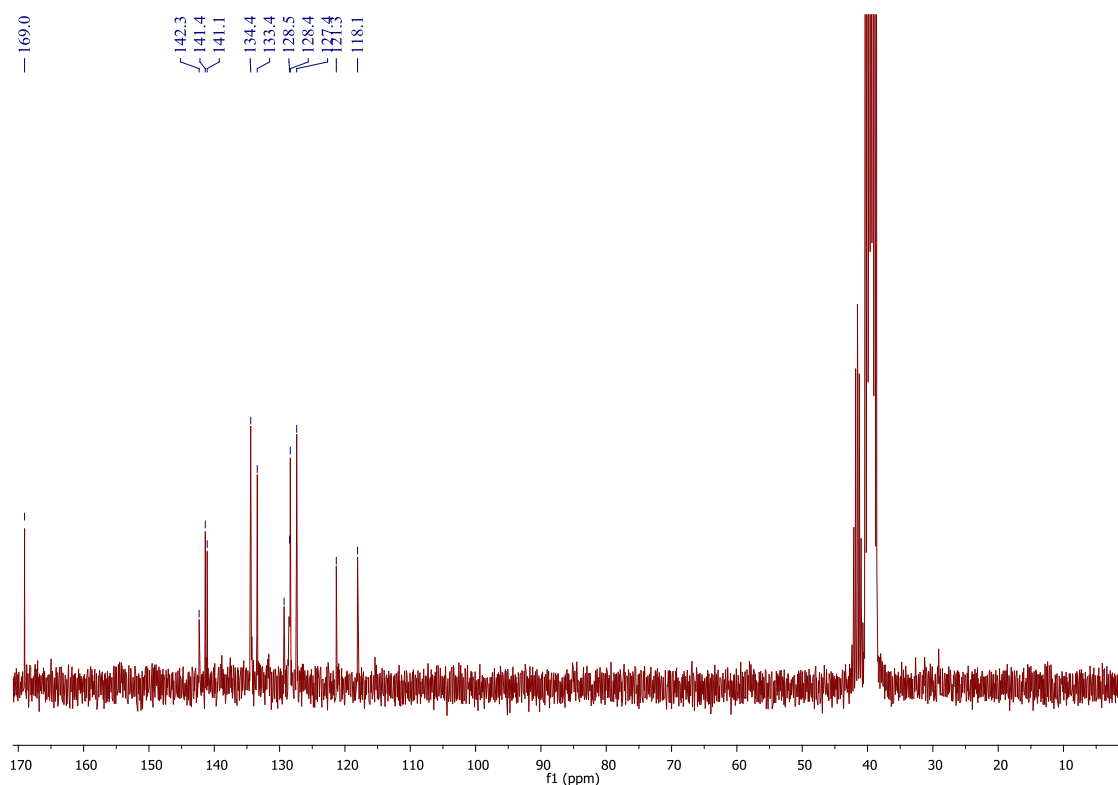
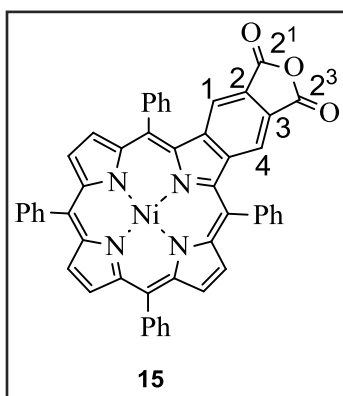


Figura P2.12. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **14a** em DMSO- d_6 .

Síntese do anidrido ftálico **15**



Uma solução de composto **14** (50,0 mg; 61,9 μmol) em anidrido acético (15 mL) foi refluxada, sob agitação, durante 1 hora. Após este tempo não foi observado material de partida em TLC. A reação foi terminada por evaporação, do anidrido acético, a pressão reduzida. De notar que para facilitar a remoção do anidrido acético, foi adicionado tolueno (volumes de 15 mL), até que a mistura reacional

estivesse completamente seca. O produto foi cristalizado em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ e foi obtido, quantitativamente (48,8 mg), na forma de um sólido verde escuro.

15: RMN de ^1H (300,13 MHz; CDCl_3): δ 7,56 (s, 2H, H1,4); 7,68-7,70 (m, 6H, Ph-H); 7,77-7,82 (m, 6H, Ph-H); 7,91-7,99 (m, 8H, Ph-H); 8,69-8,71 (m, 4H, β -H); 8,75-8,77 (m, 2H, β -H); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 116,9; 120,5; 121,8; 125,8; 127,2; 128,1; 128,5; 129,3; 132,4; 132,60; 132,62; 133,2; 133,5; 135,6; 139,7; 139,8; 142,1;

142,7; 143,5; 144,2; 163,4 (C2¹,2³); **HRMS (ESI):** $m/z = 790,1504$ (calcd. [M]⁺. 790,1509).

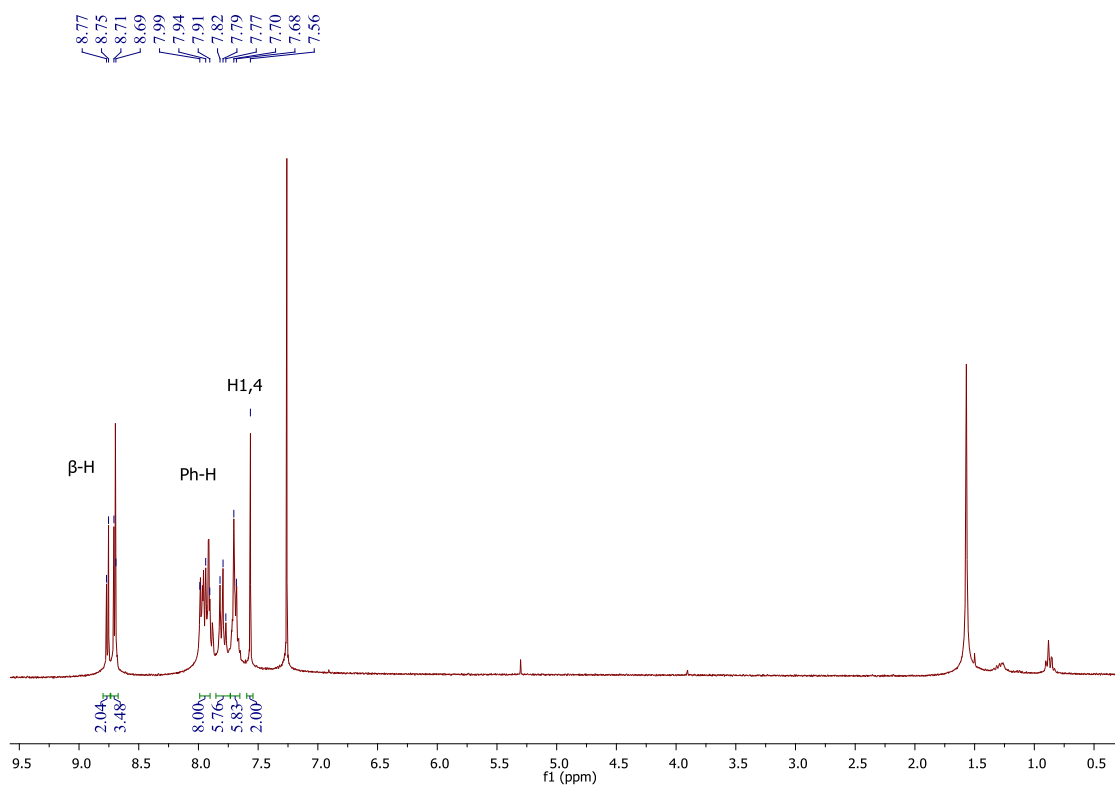


Figura P2.13. Espectro de RMN de ¹H do composto **15**.

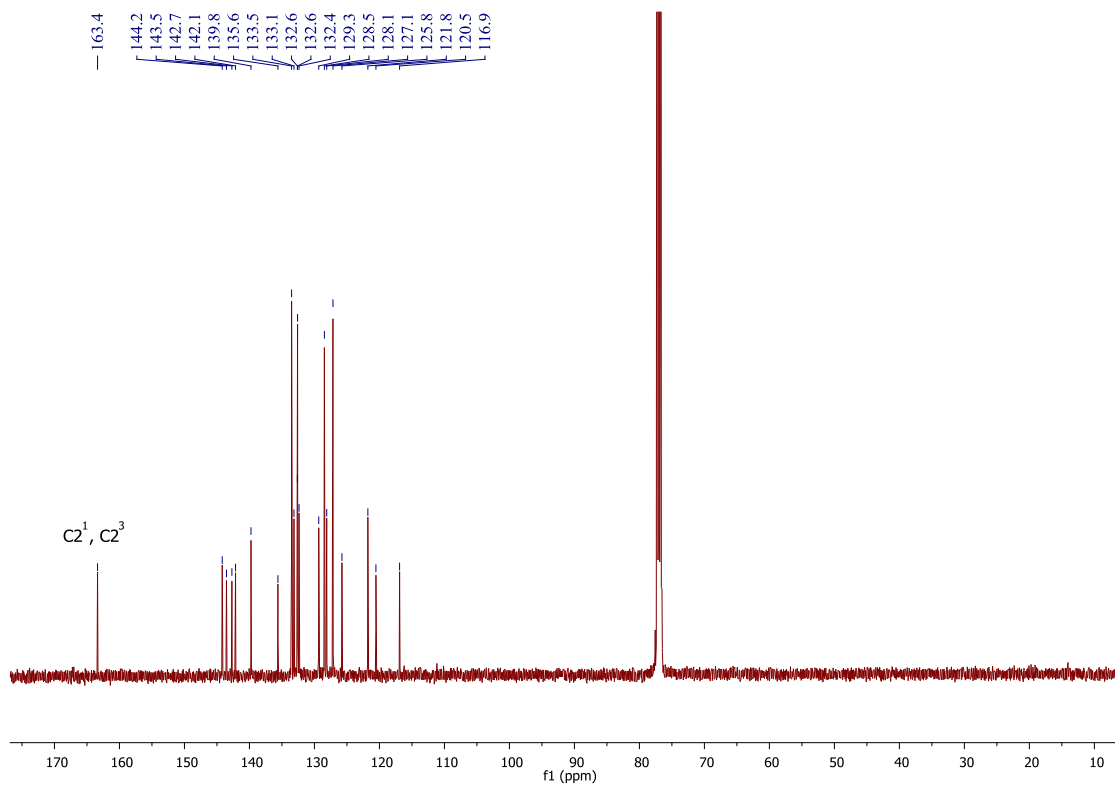
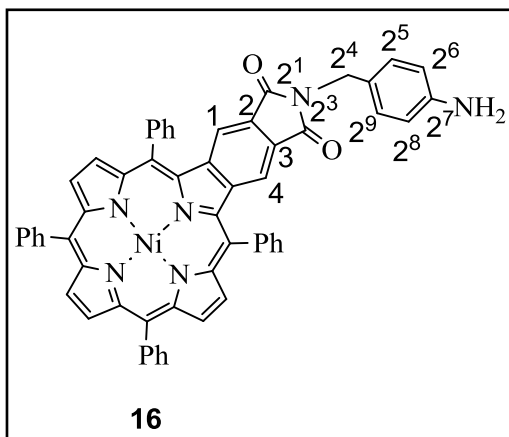


Figura P2.14. Espectro de RMN de ¹³C do composto **15**.

Síntese da ftalimida **16**

A uma solução de ácido ftálico **14** (30,0 mg, 37,1 μmol) em 1,2,4-TCB (3 mL) foram adicionados peneiros moleculares (30,0 mg). A mistura foi refluxada durante 1 hora. Ao fim deste tempo observa-se, por TLC, total conversão do ácido ftálico de partida, no respetivo anidrido ftálico **15**. À mistura reacional é adicionada uma solução de 4-aminobenzilamina (42 μL , 10 eq) em piridina

seca (3 mL). A mistura foi deixada a refluxar, num banho de areia a 220 $^{\circ}\text{C}$, durante 3 horas. Ao fim deste tempo observou-se por TLC total consumo do precursor **15** e aparecimento de um novo composto que foi identificado como sendo a ftalimida **16**. A mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, neutralizada com solução saturada de ácido cítrico, extraída com CH_2Cl_2 , e seca em Na_2SO_4 anidro. O resíduo foi cromatografado em sílica gel, onde se usaram dois eluentes: primeiro EP, de modo a remover o 1,2,4-TCB e depois CH_2Cl_2 para retirar o produto **16** em rendimento quantitativo (33,0 mg).

16: RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 4,70 (s, 2H, H^{2^4}); 6,65 (d, 2H, $\text{H}^{2^6,2^8}$; $J = 8,5$ Hz); 7,29 (m, 2H, $\text{H}^{2^5,2^9}$; $J = 8,5$ Hz); 7,40 (s, 2H, $\text{H}^{1,4}$); 7,63-7,78 (m, 10H, Ph-H); 7,84-7,98 (m, 10H, Ph-H); 8,66-8,68 (m, 4H, $\beta\text{-H}$); 8,73 (d, 2H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,0$ Hz); **RMN de ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3): δ 41,3 (C^{2^4}); 115,5 ($\text{C}^{2^6,2^8}$); 116,6; 119,5 ($\text{C}^{1,4}$); 120,2; 127,1; 127,8; 128,0; 128,3; 129,1; 130,3 ($\text{C}^{2^5,2^9}$); 132,1; 132,2; 132,6; 132,9; 133,5; 136,5; 139,98; 140,02; 141,7; 142,3; 143,3; 143,5; 168,2 ($\text{C}^{2^1,2^3}$); **MS (MALDI)**: $m/z = 894,2$ (calcd. $[\text{M}]^{+}$ 894,2); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 445 (5,41); 552 (4,29); 587 (4,20).

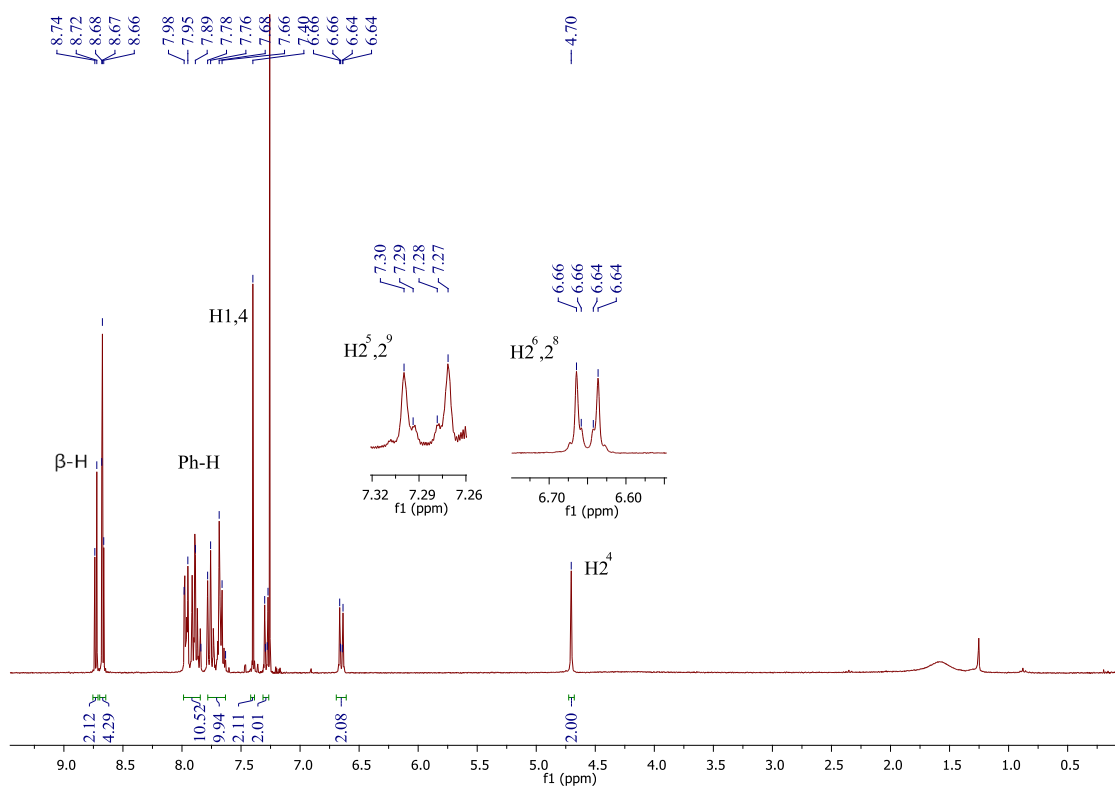


Figura P2.15. Espectro de RMN de ^1H do composto **16**.

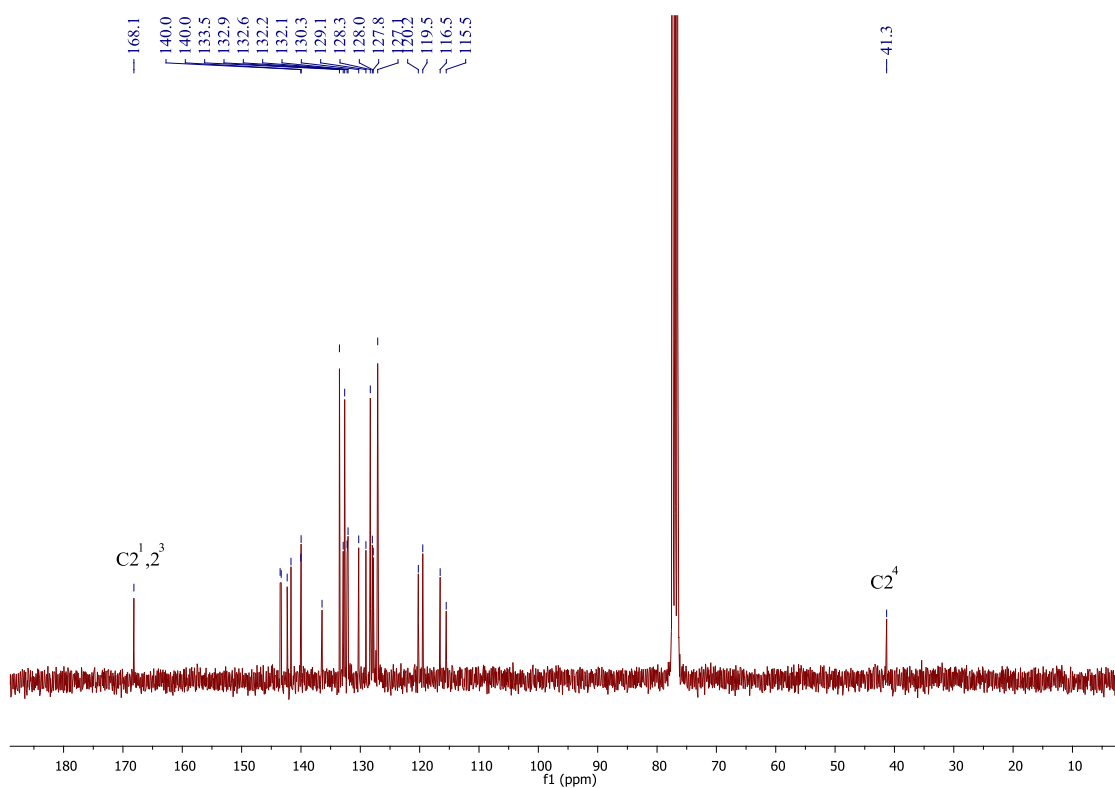
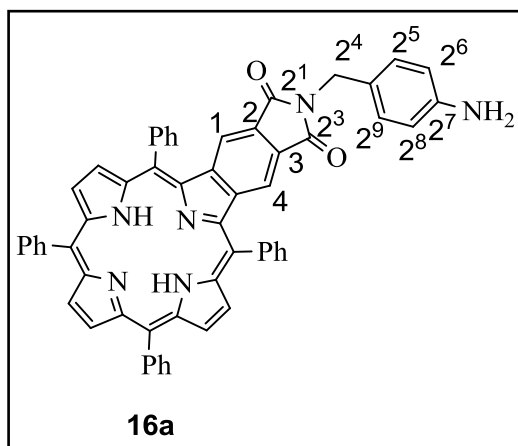


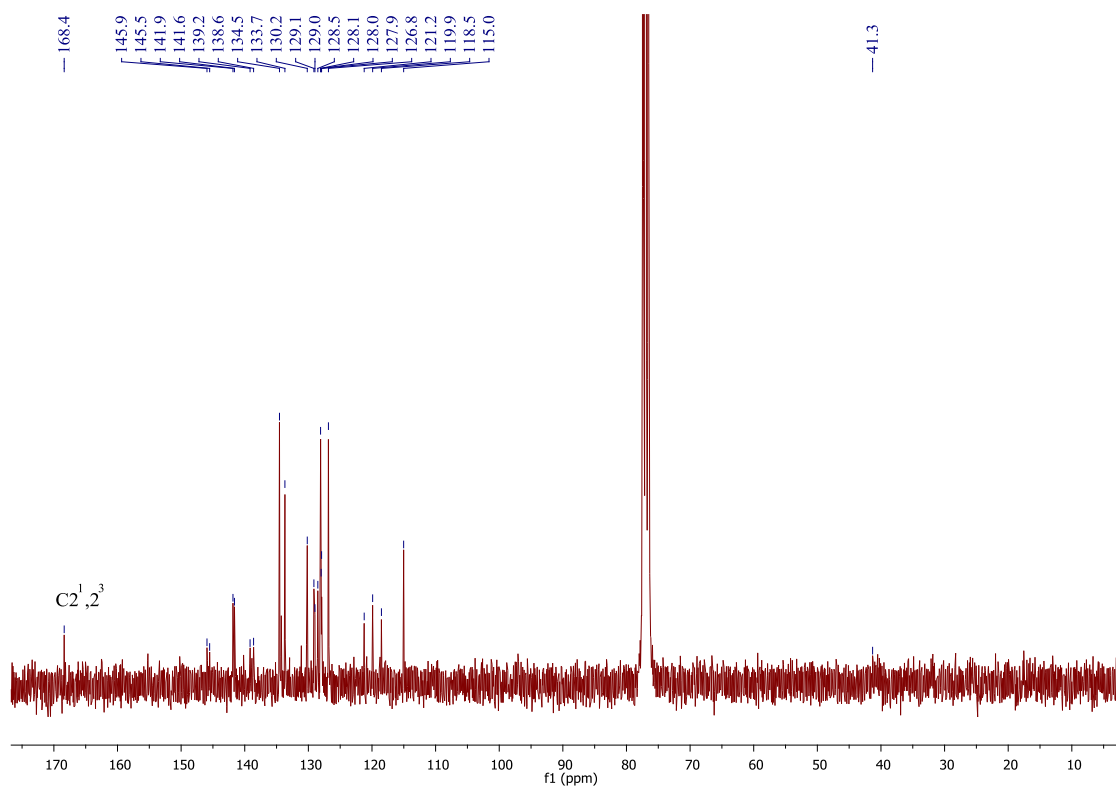
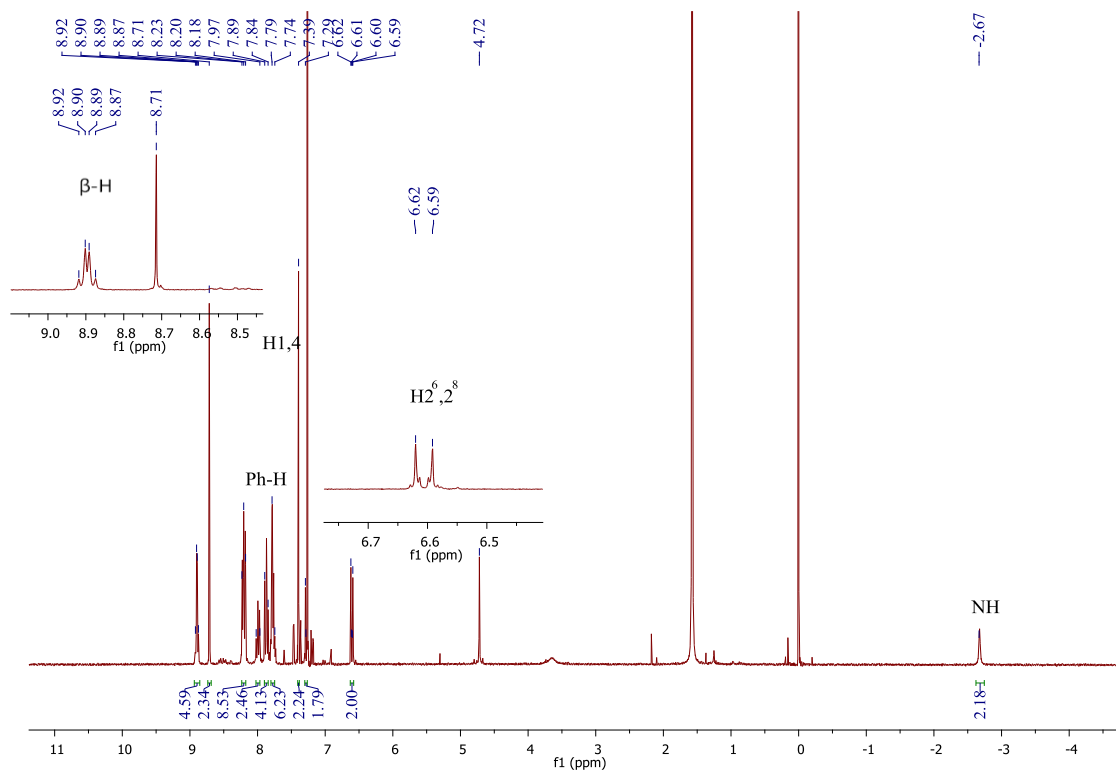
Figura P2.16. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **16**.

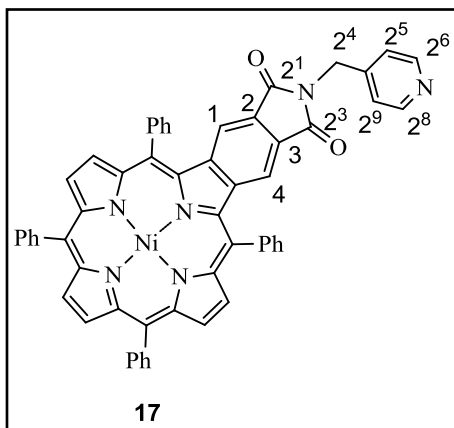
Síntese da ftalimida **16a**



Uma solução de composto **16** (10,0 mg) em CH₂Cl₂/H₂SO₄ (9:1) (1 mL), foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO₃ e extraída com CH₂Cl₂. O solvente foi evaporado até à secura e o produto **16a** foi obtido quantitativamente (9,3 mg).

16a: RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ -2,67 (s, 2H, NH); 4,72 (s, 2H, H²⁴); 6,61 (d, 2H, H^{26,28}); 7,26-7,29 (m, 2H, H^{25,29}, sobreposto com o sinal do CHCl₃); 7,39 (s, 2H, H^{1,4}); 7,74-7,80 (m, 6H, Ph-H); 7,84-7,89 (m, 4H, Ph-H); 7,97-8,02 (m, 2H, Ph-H); 8,18-8,23 (m, 8H, Ph-H); 8,71 (s, 2H, β-H); 8,88 e 8,91 (sistema AB, 4H, β-H, *J* = 5,1 Hz); **RMN de ¹³C** (75 MHz, CDCl₃): 41,3 (C²⁴); 115,0; 118,5; 119,9; 121,2; 126,9; 127,9; 128,0; 128,1; 128,5; 129,0; 129,1; 130,2; 133,7; 134,5; 138,6; 139,2; 141,6; 141,9; 145,5; 145,9; 168,4 (C^{1,23}); **HRMS (ESI)**:: *m/z* = 839,3125 (calcd. [M+H]⁺ 839,3129); **UV-vis** (CHCl₃) λ_{max} (log ε) 441 (5,22); 526 (4,13); 562 (3,63); 604 (3,68); 662 (3,12).



Síntese da ftalimida **17**

A uma solução de ácido ftálico **14** (6,5 mg, 8,4 μmol) em 1,2,4-TCB (0,7 mL) foram adicionados peneiros moleculares (7,0 mg). A mistura foi refluxada durante 1h. Ao fim deste tempo observa-se, por TLC, total conversão do ácido ftálico de partida, no respetivo anidrido ftálico **15**. À mistura reacional é adicionada uma solução de 4-(aminometil)piridina (100 μL) em piridina seca

(0,7 mL). A mistura foi deixada a refluxar, num banho de areia a 220 $^{\circ}\text{C}$, durante 3 horas. Ao fim deste tempo observou-se por TLC total consumo do precursor **15** e aparecimento de um novo composto que foi identificado como sendo a ftalimida **17**. A mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, neutralizada com solução saturada de ácido cítrico, extraída com CH_2Cl_2 , e seca em Na_2SO_4 anidro. O resíduo foi cromatografado em sílica gel, onde se usaram dois eluentes: primeiro EP, de modo a remover o 1,2,4-TCB e segundo $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9,5:0,5 para retirar o produto **17** com um rendimento de 33% (2,4 mg).

17: RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 4,80 (s, 2H, H_2^4); 7,32-7,42 (m largo, 2H); 7,61-7,81 (m, 12H, Ph-H+2H); 7,86-7,99 (m, 10H, Ph-H); 8,68-8,70 (m, 4H, β -H), 8,76 (d, 2H, β -H, $J = 5,0$ Hz); **RMN de ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3): δ 116,7; 119,9; 120,3; 127,1; 127,2; 128,0; 128,4; 129,1; 132,2; 132,4; 132,7; 133,0; 133,5; 136,3; 139,9; 140,0; 141,9; 142,5; 143,4; 143,5; 167,9 ($\text{C}^{2,3}$); **HRMS (ESI)**: $m/z = 881,2153$ (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+$ 881,2170).

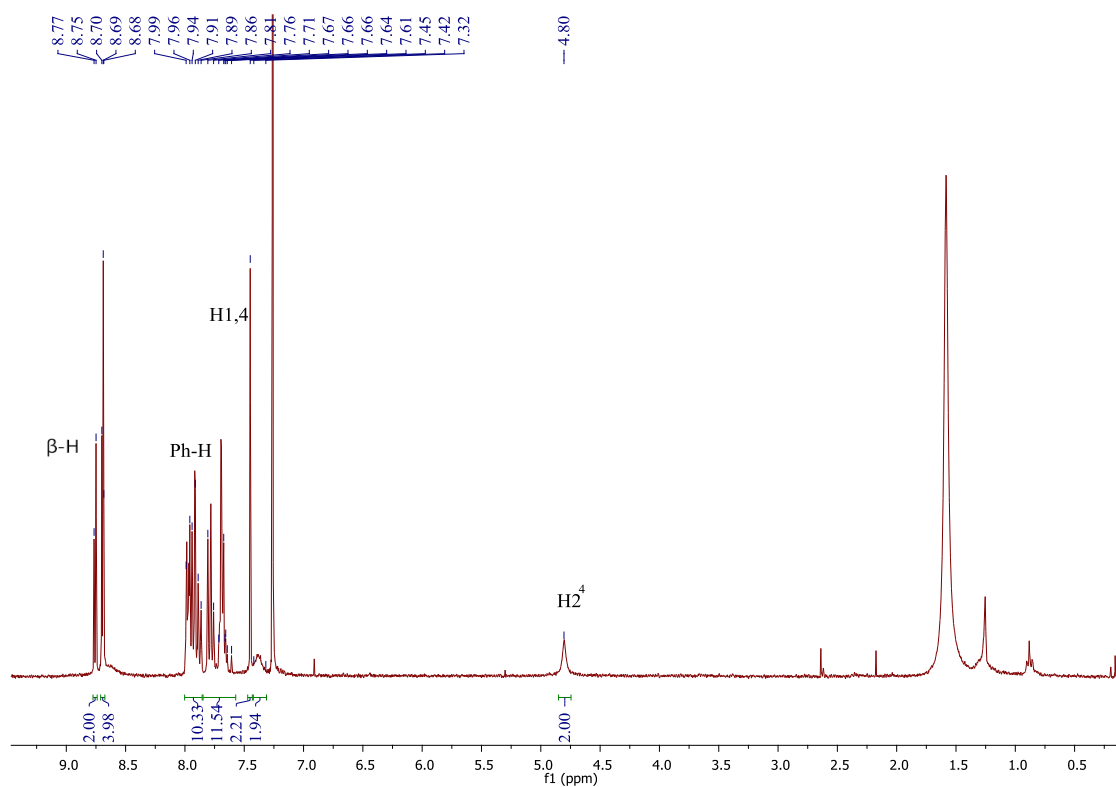


Figura P2.20. Espectro de RMN de ^1H do composto 17.

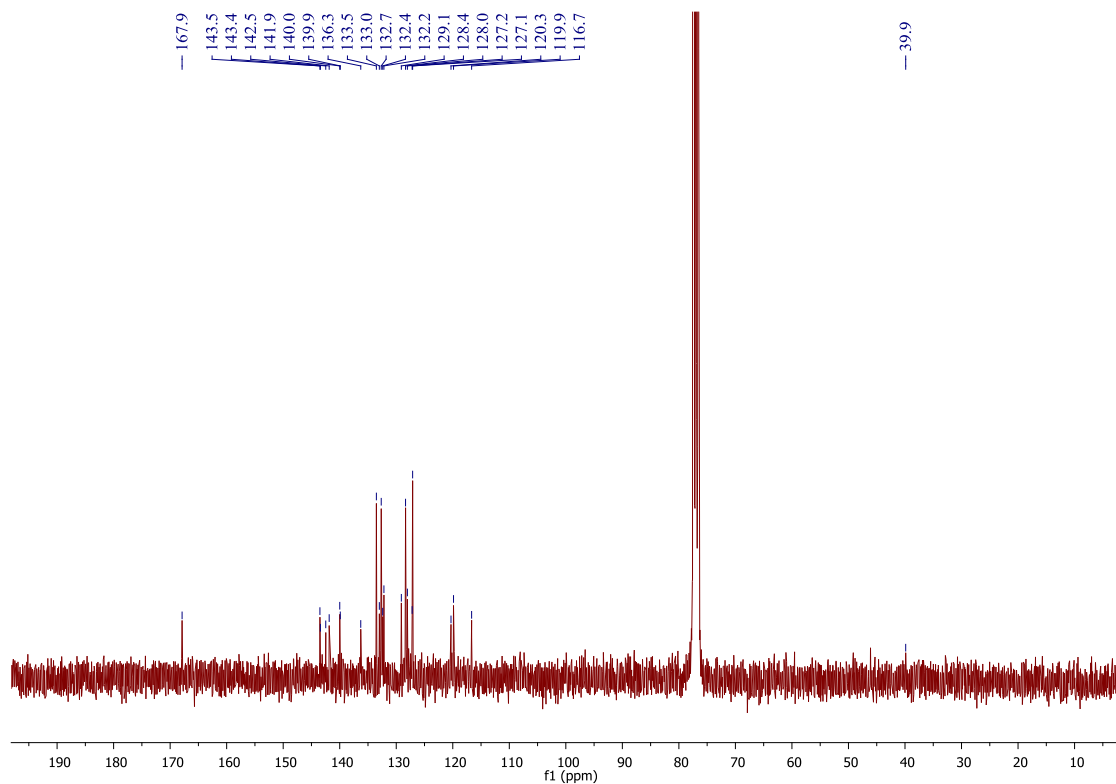
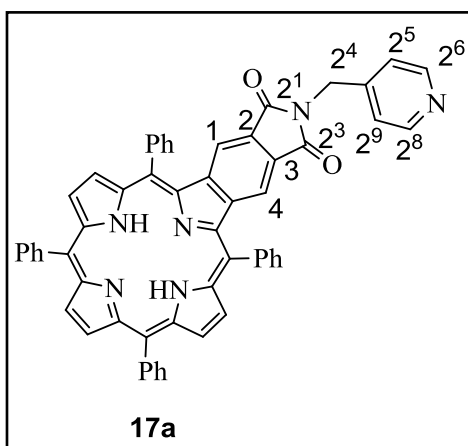


Figura P2.21. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 17.

Síntese da ftalimida **17a**

Uma solução de composto **17** (4,0 mg) em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{SO}_4$ (9:1) (0,4 mL), foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução saturada de NaHCO_3 e extraída com CH_2Cl_2 . O solvente foi evaporado até à secura e o produto **17a** foi cristalizado em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EP}$ tendo sido obtido quantitativamente (3,4 mg).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ -2,66 (s, 2H, NH), 4,83 (s, 2H, $\text{H}2^4$); 7,32 (dd, 2H, $\text{H}2^5,2^9$, $J = 4,6; 1,6$ Hz); 7,44 (s, 2H, $\text{H}1,4$); 7,73-7,81, 7,85-7,91, 7,97-8,03, 8,19-8,23 (4m, 20H, Ph-H, sobrepostos com sinais de impurezas); 8,54 (dd, 2H, $\text{H}2^6,2^8$; $J = 4,6; 1,6$ Hz); 8,72 (s, 2H, β -H), 8,90 e 8,92 (sistema AB, 4H, β -H, $J = 5,1$ Hz); **RMN de ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3): 40,6 ($\text{C}2^4$); 118,6; 120,25; 121,31; 123,1; 126,9; 128,0; 128,1; 128,4; 128,6; 129,1; 133,7; 134,4; 134,5; 138,7; 139,1; 141,6; 141,8; 145,2; 145,7; 150,1; 168,1 ($\text{C}2^1,2^3$); **MS (MALDI)**: $m/z = 825,3$ (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+ 824,3$).

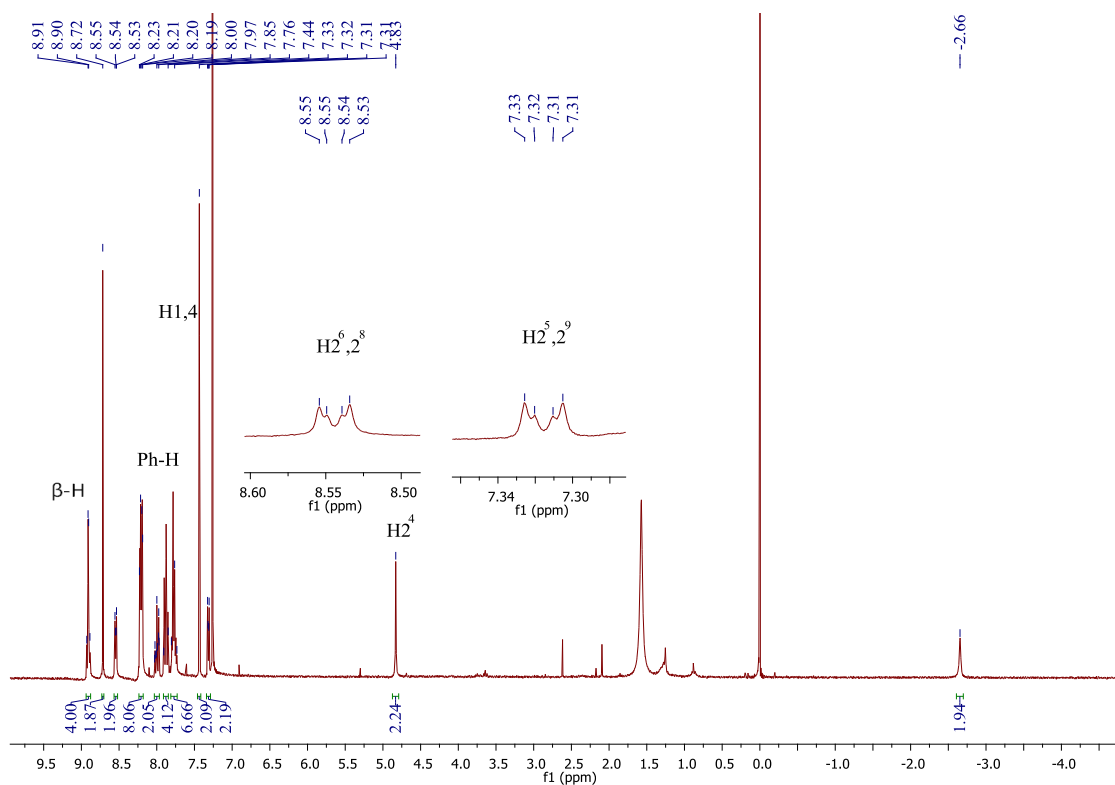


Figura P2.22. Espectro de RMN de ^1H do composto **17a**.

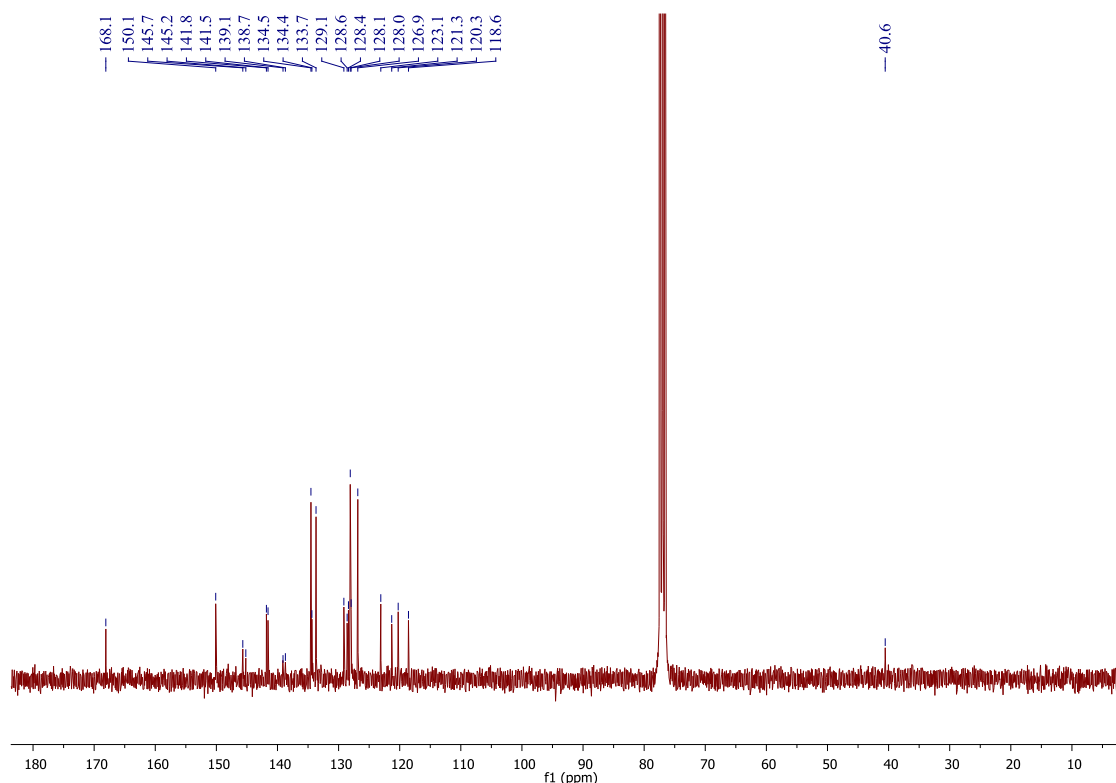
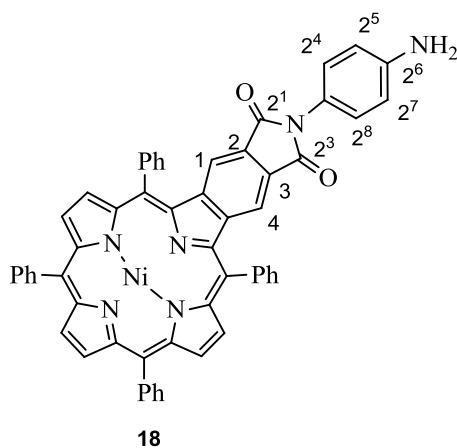


Figura P2.23. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **17a**.

Síntese da ftalimida **18**



A uma solução de ácido ftálico **14** (10,0 mg; 12,4 μmol) em 1,2,4-TCB (1,2 mL) foram adicionados peneiros moleculares (10,0 mg). A mistura foi refluxada durante 1h. Ao fim deste tempo observa-se por TLC total conversão do ácido ftálico de partida, no respetivo anidrido ftálico **15**. À mistura reacional foi adicionada uma solução de benzeno-1,4-diamina (50 mg) em piridina seca (1,2 mL). A mistura foi deixada a refluxar, num banho de areia

a 220 °C, durante 16h. Ao fim deste tempo observa-se por TLC total consumo do precursor **15** e aparecimento de um novo composto que foi identificado como sendo a ftalimida **18**. A mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, neutralizada com solução saturada de ácido cítrico, extraída com CH_2Cl_2 , e seca em Na_2SO_4 anidro. O resíduo foi cromatografado em sílica gel, onde se usaram dois eluentes: primeiro EP,

de modo a remover o 1,2,4-TCB e depois CH₂Cl₂ para retirar o produto **18** em rendimento quantitativo (10,7 mg).

18: RMN de ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 6,75 (d, 2H, H²_{5,2}⁷; *J* = 8,6 Hz); 7,19 (d, 2H; H²_{4,2}⁸; *J* = 8,6 Hz); 7,47 (s, 2H, H¹₄); 7,66-8,00 (m, 20H, Ph-H); 8,69 (s, 2H, β-H); 8,70 (d, 2H, β-H, *J* = 4,9 Hz), 8,77 (d, 2H, β-H, *J* = 4,9 Hz); **RMN de ¹³C** (75 MHz, CDCl₃): δ 115,1 (C⁵₂⁷); 116,6; 119,8 e 120,3 (C¹₄); 122,6; 127,1; 127,4; 127,6; 128,0 (C²_{4,2}⁸); 128,4; 129,1; 132,1; 132,3; 132,7; 132,9; 133,5; 136,5; 139,96; 140,02; 141,7; 142,4; 143,52; 143,54; 146,1; 167,8 (C²_{1,2}³); **MS (MALDI)**: *m/z* = 880,2 [M]⁺ (calcd. 880,2); **UV-vis** (CHCl₃) λ_{max} (log ε) 446 (5,20); 552 (4,16); 590 (4,09).

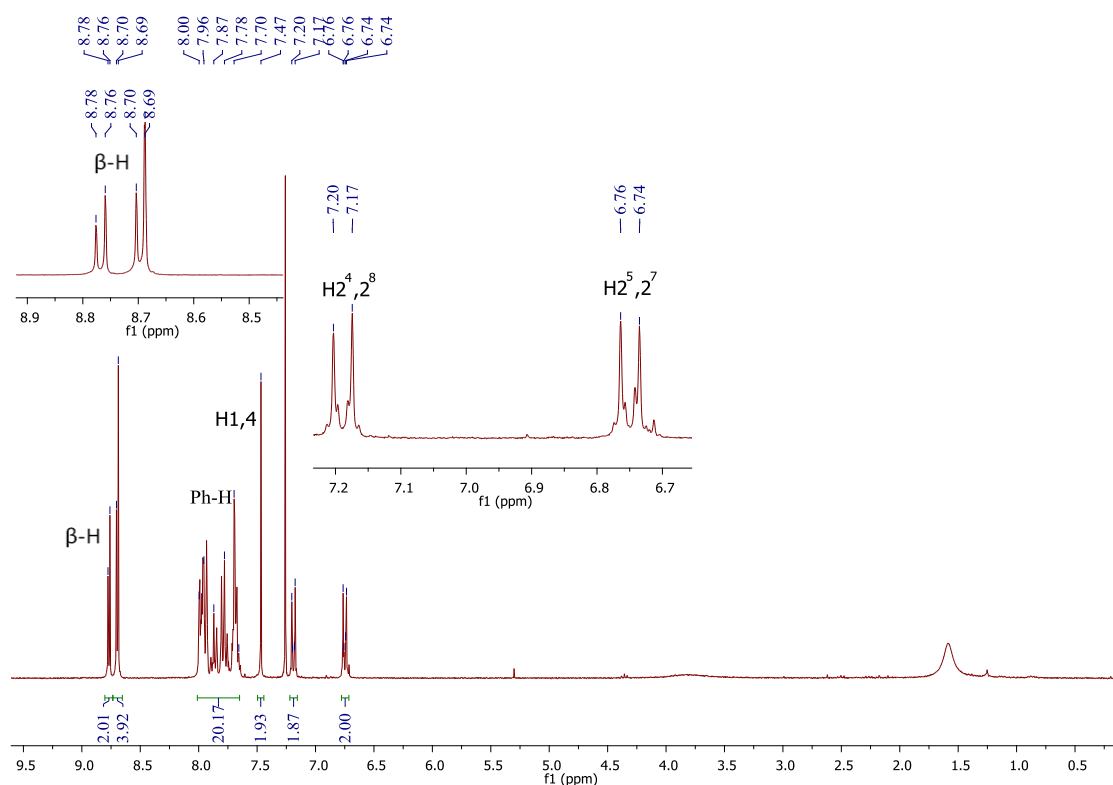


Figura P2.24. Espectro de RMN de ¹H do composto **18**.

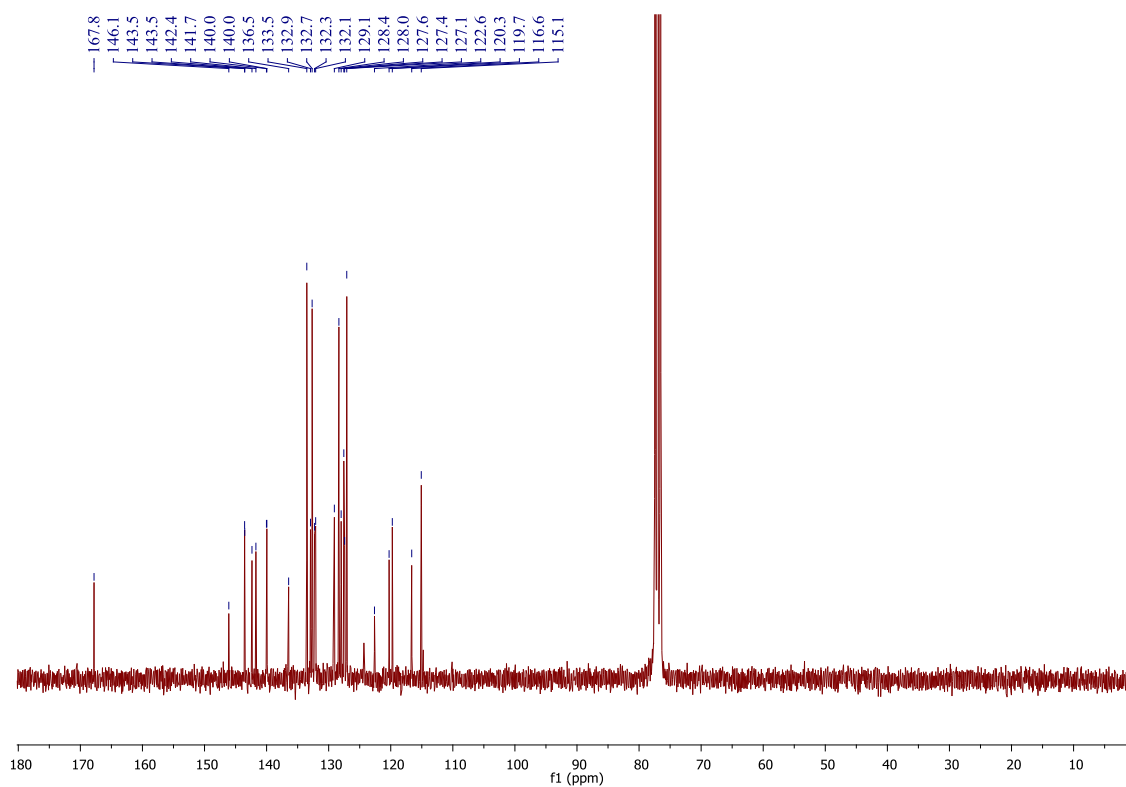


Figura P2.25. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **18**.

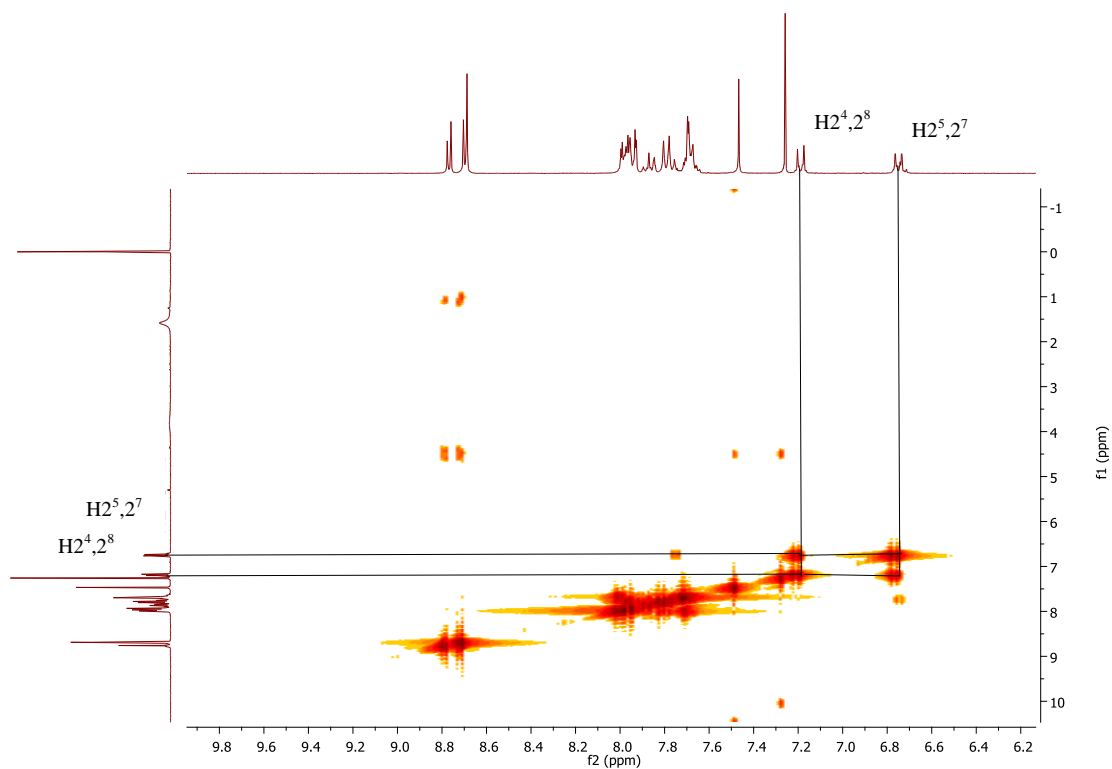


Figura P2.26. Espectro parcial de COSY do composto **18**.

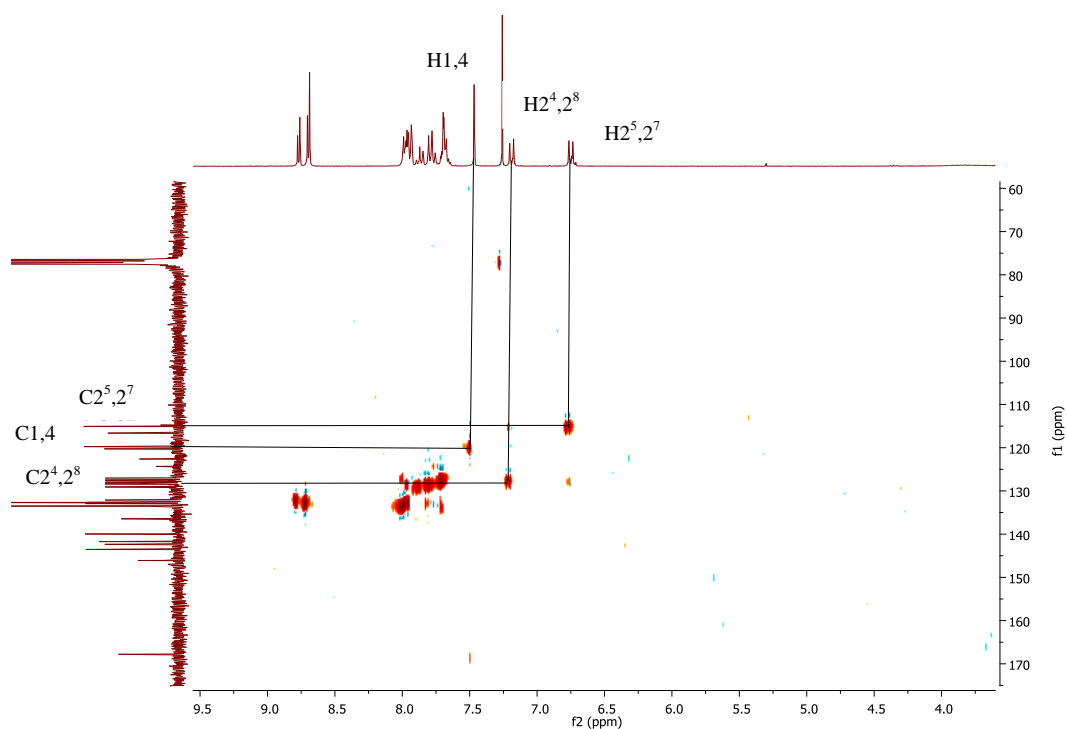
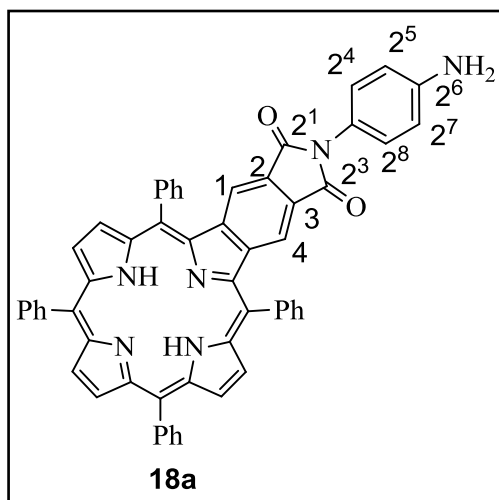


Figura P2.27. Espectro de HSQC do composto **18**.

Síntese da ftalimida **18a**



Uma solução de composto **18** (10.0 mg) em $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (9:1) (1 mL), foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO_3 e extraída com CH_2Cl_2 . O solvente foi evaporado até à secura e o produto **18a** foi obtido quantitativamente (9,2 mg).

18a: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ -2,63 (s, 2H, NH internos); 6,75 (d, 2H, $\text{H}^{2^5,2^7}$; $J = 8,6$ Hz); 7,20 (d, 2H; $\text{H}^{2^4,2^8}$; $J = 8,6$ Hz); 7,46 (s, 2H, $\text{H}^{1,4}$); 7,76-7,80 (m, 6H, Ph-H); 7,84-7,89 (m, 4H, Ph-H); 7,95-8,00 (m, 2H, Ph-H); 8,20-8,24 (m, 8H, Ph-H); 8,72 (s, 2H, β -H); 8,91 (sistema AB, 4H, β -H, $J = 5,2$ Hz); **MS (MALDI)**: $m/z =$

825.2970 $[M+M]^+$ (calcd. 825.2973); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 443 (5,18); 527 (4,07); 563 (3,60); 604 (3,63); 663 (3,07).

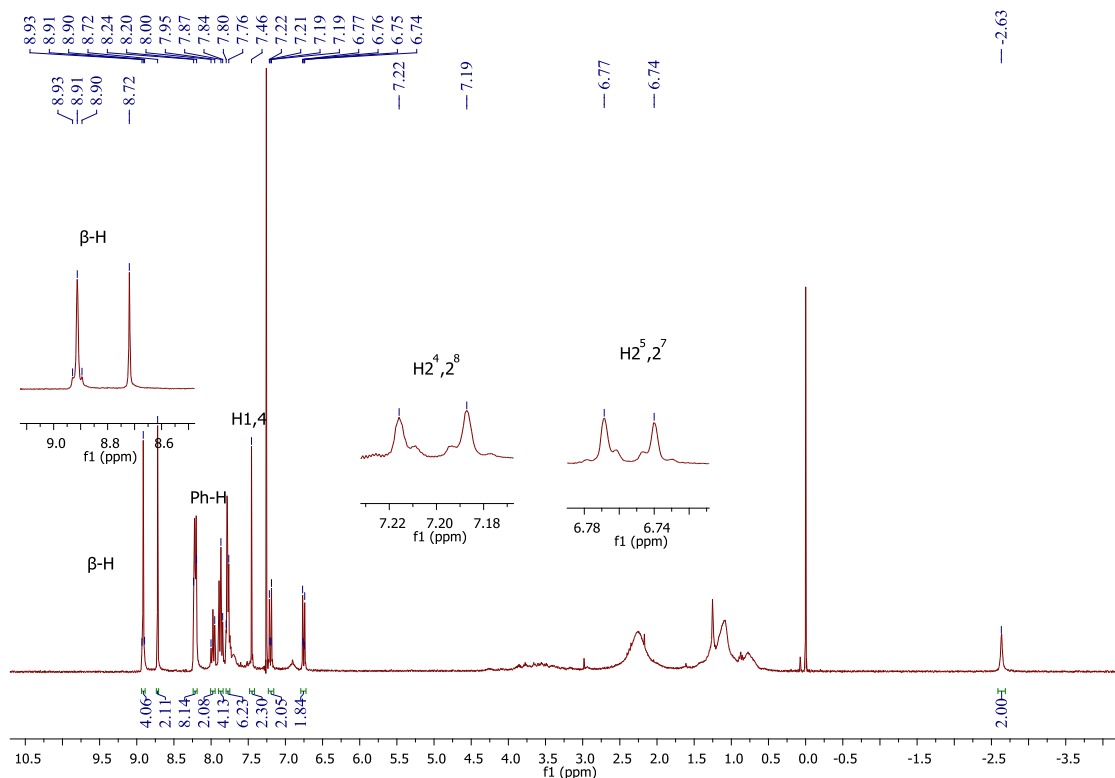
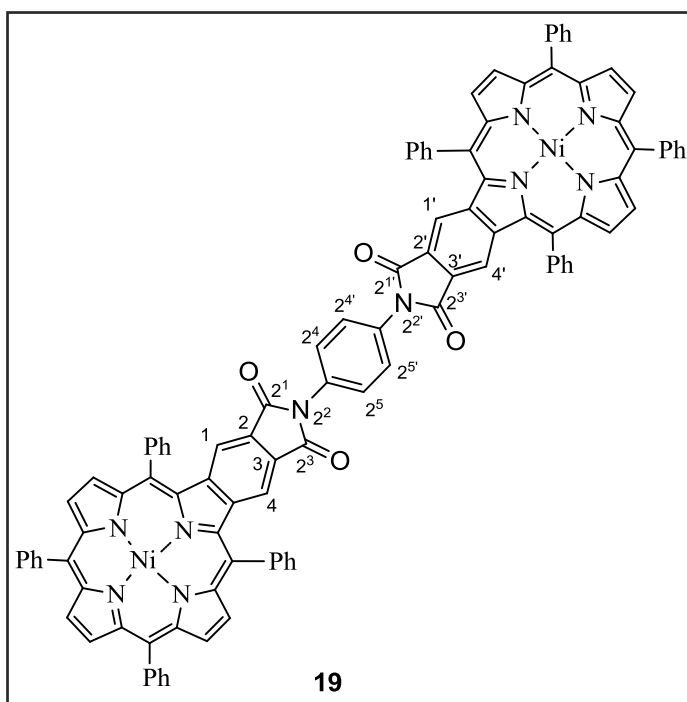


Figura P2.28. Espectro de RMN de ^1H do composto **18a**.

Síntese do dímero **19**



A uma solução de ácido ftálico **14** (7,9 mg; 9,8 μmol) em 1,2,4-TCB (1 mL) foram adicionados peneiros moleculares (9,0 mg). A mistura foi refluxada durante 1 hora. Ao fim deste tempo observou-se por TLC total conversão do ácido ftálico de partida no respetivo anidrido ftálico **15**. À mistura reacional foi adicionada uma solução de benzeno-1,4-diamina (0,53 mg; 4,9 μmol ; 0,5 eq) em piridina

seca (1 mL). A mistura foi refluxada, num banho de areia a 220 °C, durante 16 h. Ao fim deste tempo observou-se por TLC total consumo do precursor **15** e aparecimento de um novo composto que foi identificado como sendo o dímero **19**. A mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, neutralizada com solução aquosa saturada de ácido cítrico e extraída com CH₂Cl₂. O resíduo foi cromatografado em sílica gel, onde se usaram dois eluentes: primeiro EP, de modo a remover o 1,2,4-TCB e depois CH₂Cl₂ para retirar o produto **19** (2,0 mg; 12%).

19: RMN de ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 7,41 (s, 2H); 7,53 (s, 3H); 7,65 (s, 3H); 7,67-7,72 (m, 12H, Ph-H) 7,76-7,87 (m, 8H, Ph-H); 7,95-8,01(m, 20H, Ph-H); 8,68-8,79 (m, 12H, β-H); **RMN de ¹³C** (126 MHz, CDCl₃): δ 116,6; 116,7; 119,4; 120,1; 120,3; 126,3; 127,1; 127,8; 128,0; 128,3; 128,4; 129,1; 129,2; 132,1; 132,2; 132,26; 132,33; 132,7; 132,9; 133,0; 133,5; 136,4; 136,5; 140,0; 141,7; 141,8; 142,38; 142,44; 143,3; 143,6; 143,7; 167,4; 168,6; **HRMS (MALDI)**: *m/z* = 1652,3483 (calcd. [M]⁺⁺ 1652,3501).

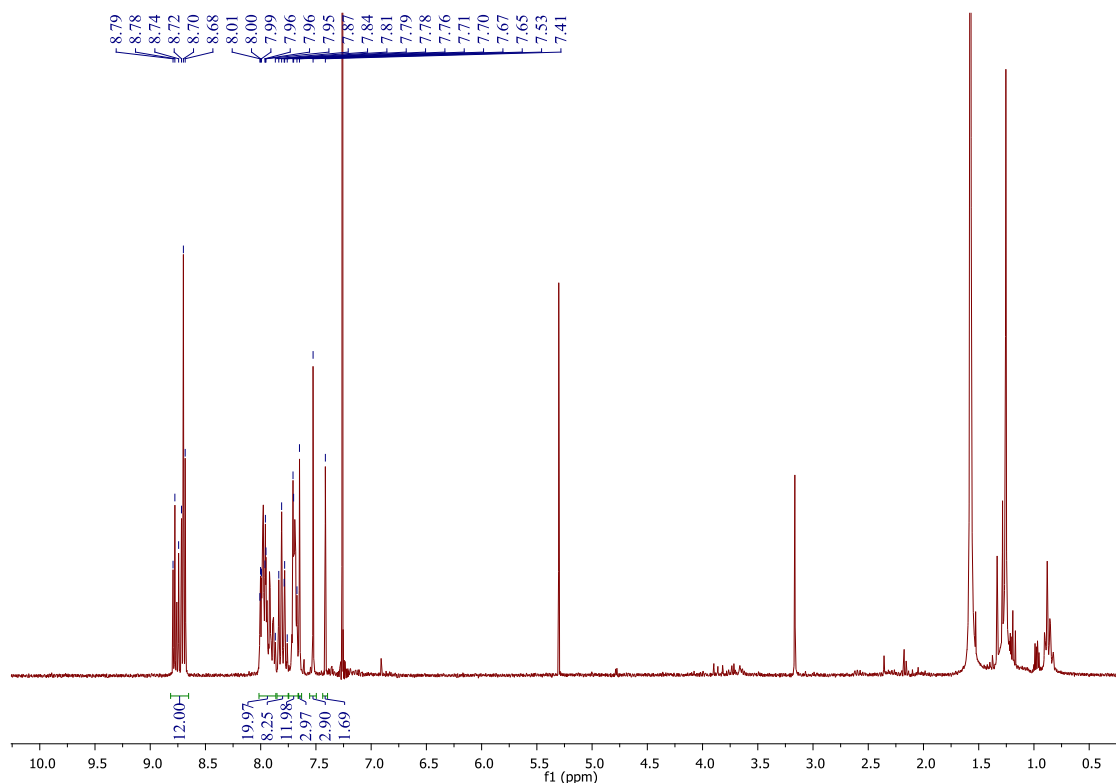


Figura P2.29. Espectro de RMN de ¹H do composto **19**.

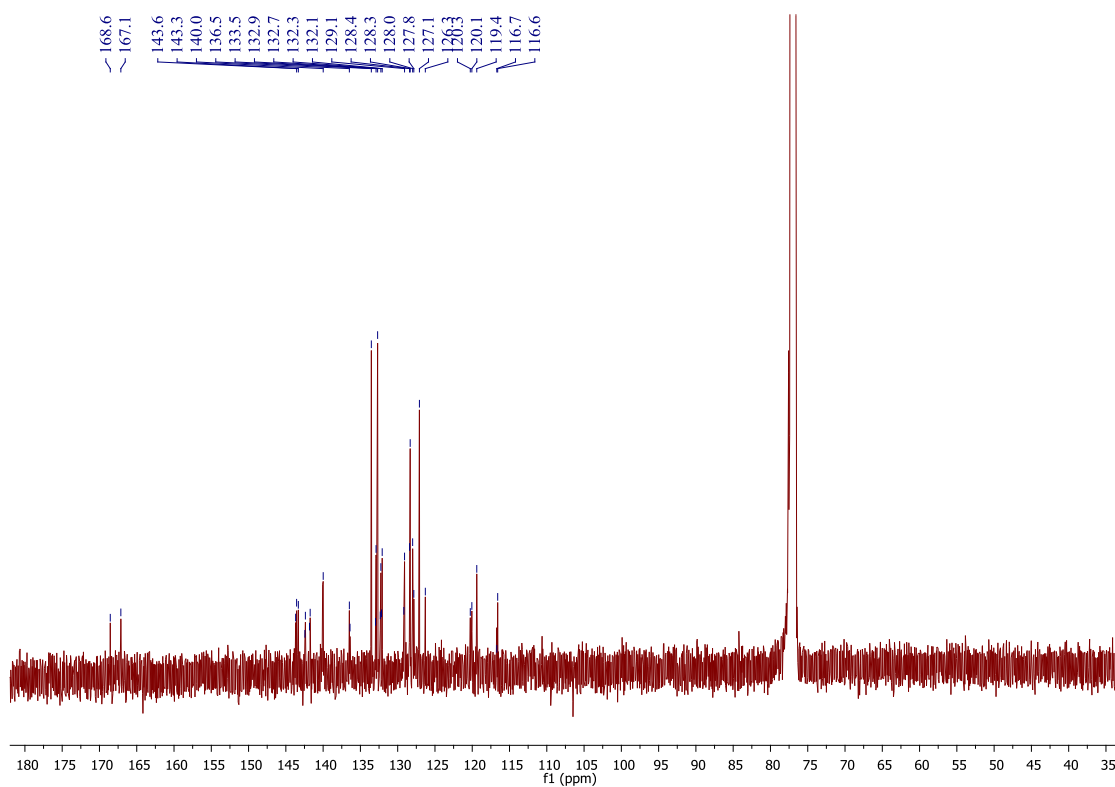


Figura P2.30. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **19**.

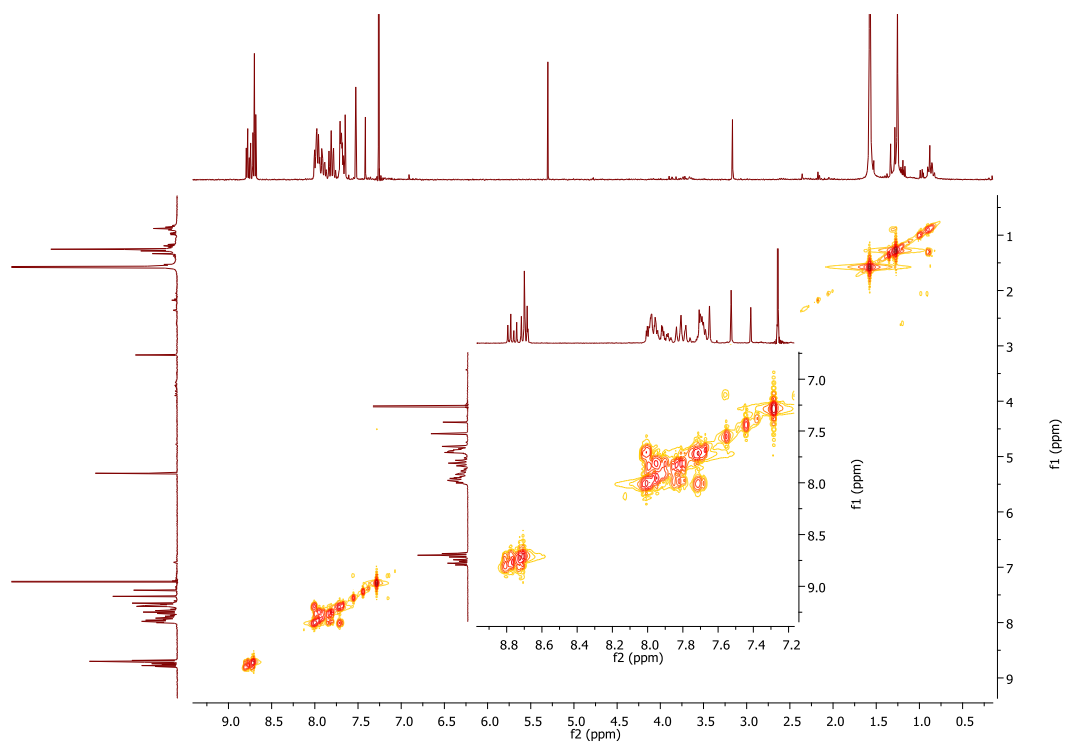


Figura P2.31. Espectro de COSY do composto **19**.

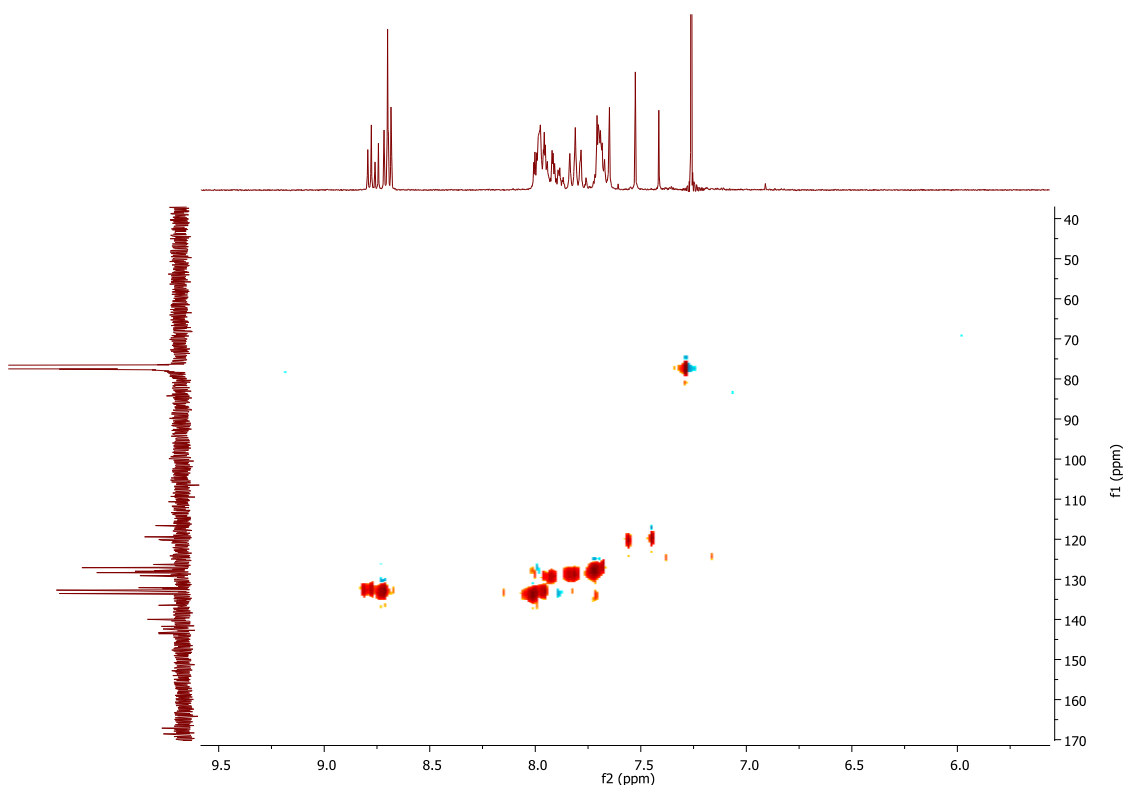
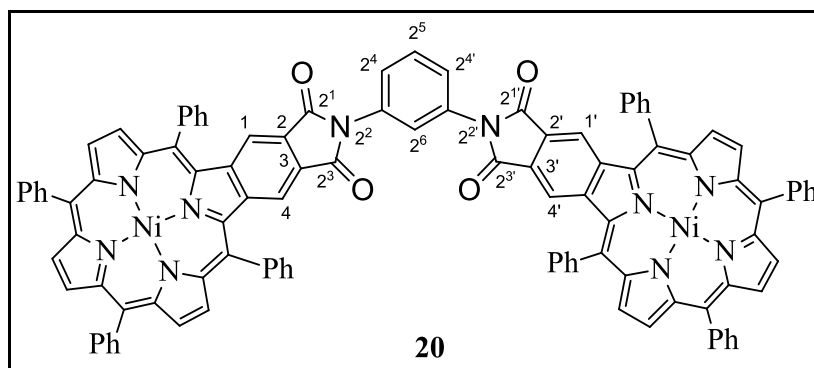


Figura P2.32. Espectro parcial de HSQC do composto **19**.

Síntese do dímero **20**



A uma solução de ácido ftálico **14** (10,5 mg; 13,0 μmol) em 1,2,4-TCB (1 mL) foram adicionados peneiros moleculares (9,5 mg). A mistura foi refluxada durante 1 hora. Ao fim deste tempo observou-se por TLC total conversão do ácido ftálico de partida no respetivo anidrido ftálico **15**. À mistura reacional foi adicionada uma solução de benzeno-1,3-diamina (0,70 mg; 6,5 μmol ; 0,5 eq) em piridina seca (1 mL). A mistura foi deixada a refluxar, num banho de areia 220 $^{\circ}\text{C}$, durante 16 h. Ao fim deste tempo

observa-se por TLC total consumo do precursor **15** e aparecimento de um novo composto que foi identificado como sendo o dímero **20**. A mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, neutralizada com solução aquosa saturada de ácido cítrico e extraída com CH₂Cl₂. O resíduo foi cromatografado em sílica gel, onde se usaram dois eluentes: primeiro EP, de modo a remover o 1,2,4-TCB e depois CH₂Cl₂ para retirar o produto **20** (4,0 mg; 19%).

20: RMN de ¹H (300 MHz; CDCl₃): 7,52 (s, 4H, H1,4 e H1',4'); 7,55-7,59 (m, 3H de H2⁴, H2^{4'}, H2⁵ e H2⁶); 7,65-7,71; 7,76-7,83; 7,86-7,91; 7,95-8,01 (4m, 41H, Ph-H e 1H de H2⁴, H2^{4'}, H2⁵ e H2⁶); 8,69 (s, 4H, β-H) 8,70 (d, 4H, β-H, *J* = 4,9 Hz); 8,78 (d, 4H, β-H, *J* = 4,9 Hz); **MS (MALDI)**: *m/z* = 1652,5 (calcd. [M]⁺⁺ 1652,4); **UV-vis** (CHCl₃) λ_{max} (log ε) 448 (5,03); 560 (4,17); 597 (4,18).

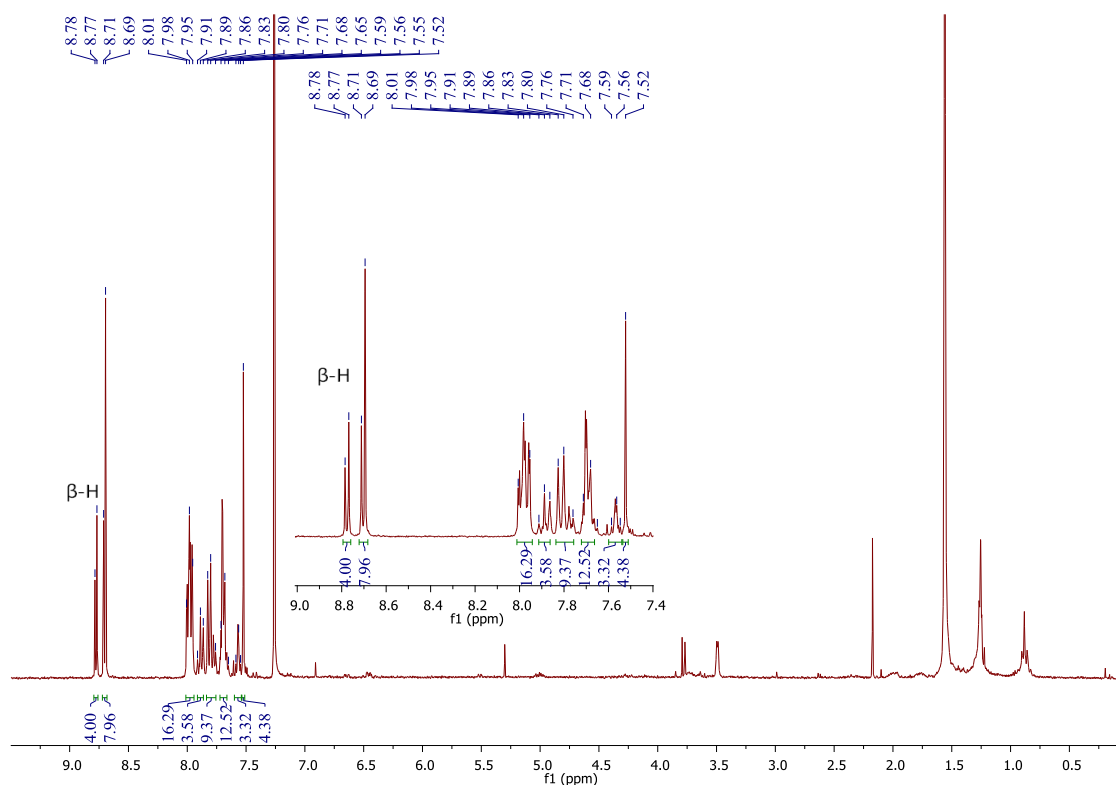
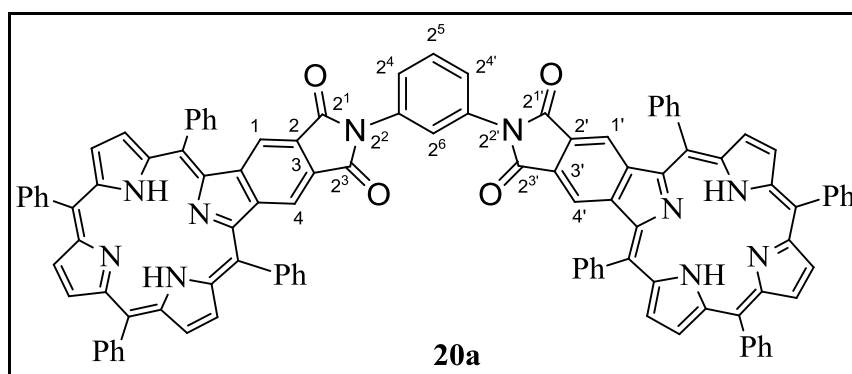


Figura P2.33. Espectro de RMN de ¹H do composto **20**.

Síntese do dímero 20a



Uma solução de composto **20** (8,0 mg) em CH₂Cl₂/ H₂SO₄ (9:1) (0,8 mL) foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO₃ e extraída com CH₂Cl₂. O solvente foi evaporado até à secura e o produto **20a** foi obtido quantitativamente (7,3 mg).

20a: RMN de ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ -2,61 (s, 4H, NH internos); 7,52 (s, 4H, H1,4 e H1',4'); 7,58-7,62 (m, 3H de H2⁴,2^{4'}, H2⁵ e H2⁶); 7,75-7,82, 7,89-7,93, 7,98-8,04, 8,23-8,27 (4m, 41H, Ph-H e 1H de H2⁴,2^{4'}, H2⁵ e H2⁶); 8,74 (s, 4H, β-H); 8,94 (s, 8H, β-H); **RMN de ¹³C** (75 MHz, CDCl₃): δ 118,7; 120,5; 121,3; 123,4; 124,9; 126,9; 127,9; 128,1; 128,1; 128,2; 128,6; 129,2; 132,6; 133,7; 134,3; 134,6; 138,7; 139,2; 141,6; 141,8; 145,9; 148,6; 155,6; 167,1; **HRMS (MALDI)**: m/z =1541,5167 (calcd. [M+H]⁺ 1541,5138); **UV-vis** (CHCl₃) λ_{max} (log ε) 446 (5,54); 527 (4,47); 564 (4,03); 605 (4,05); 662 (3,44).

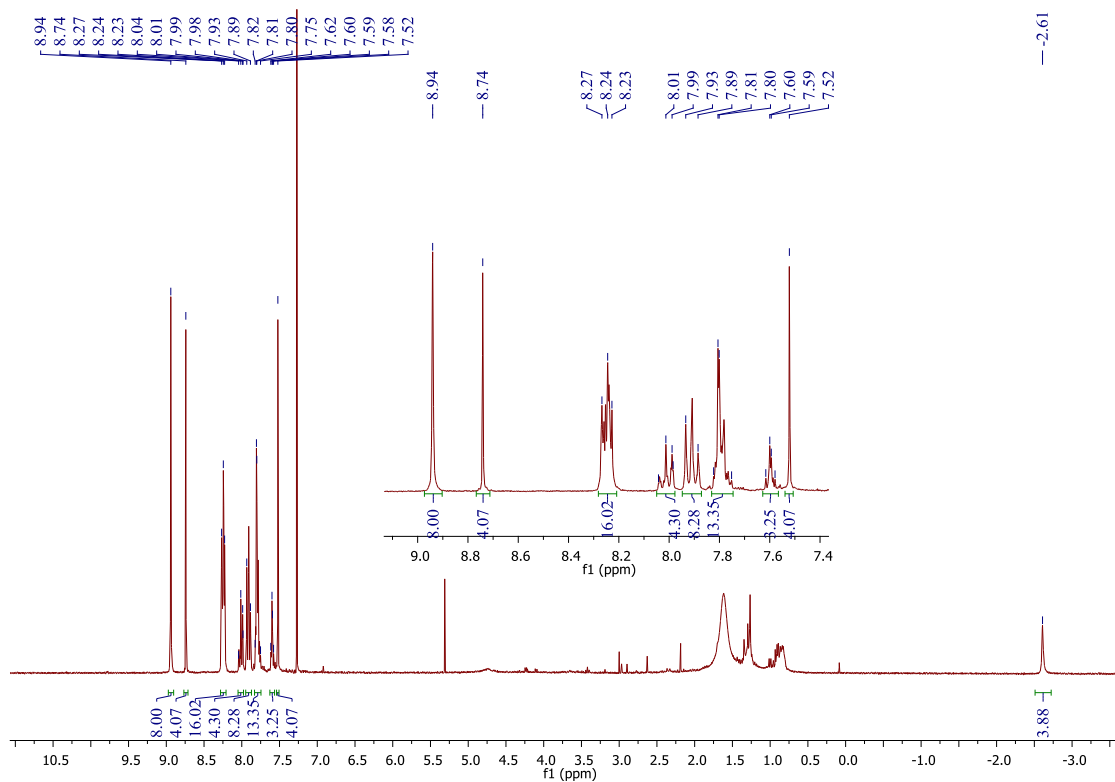


Figura P2.34. Espectro de RMN de ^1H do composto **20a**.

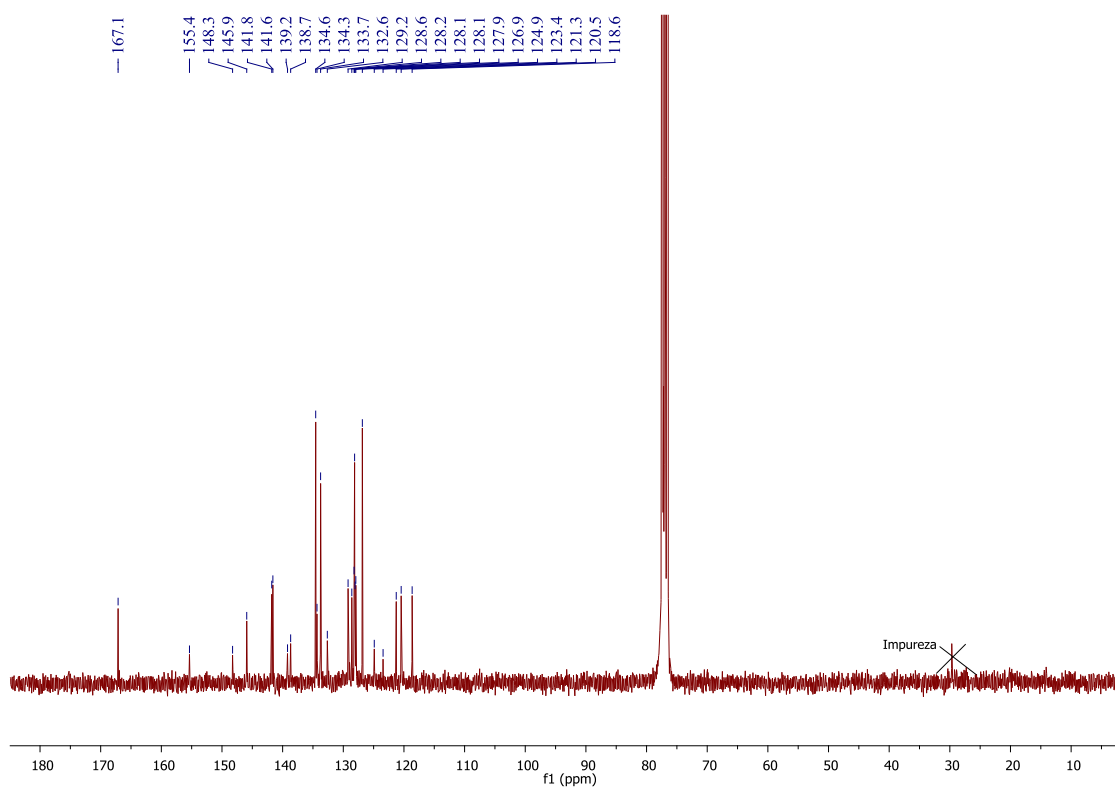


Figura P2.35. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **20a**.

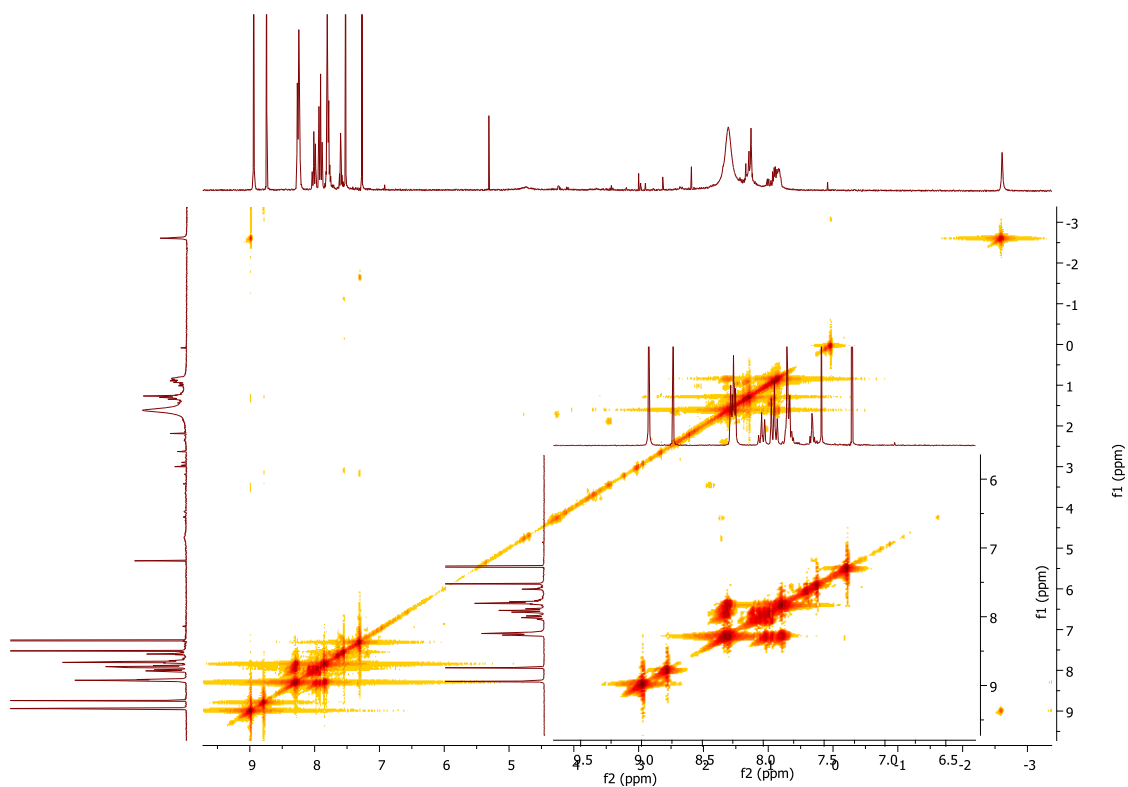


Figura P2.36. Espectro de COSY do composto **20a**.

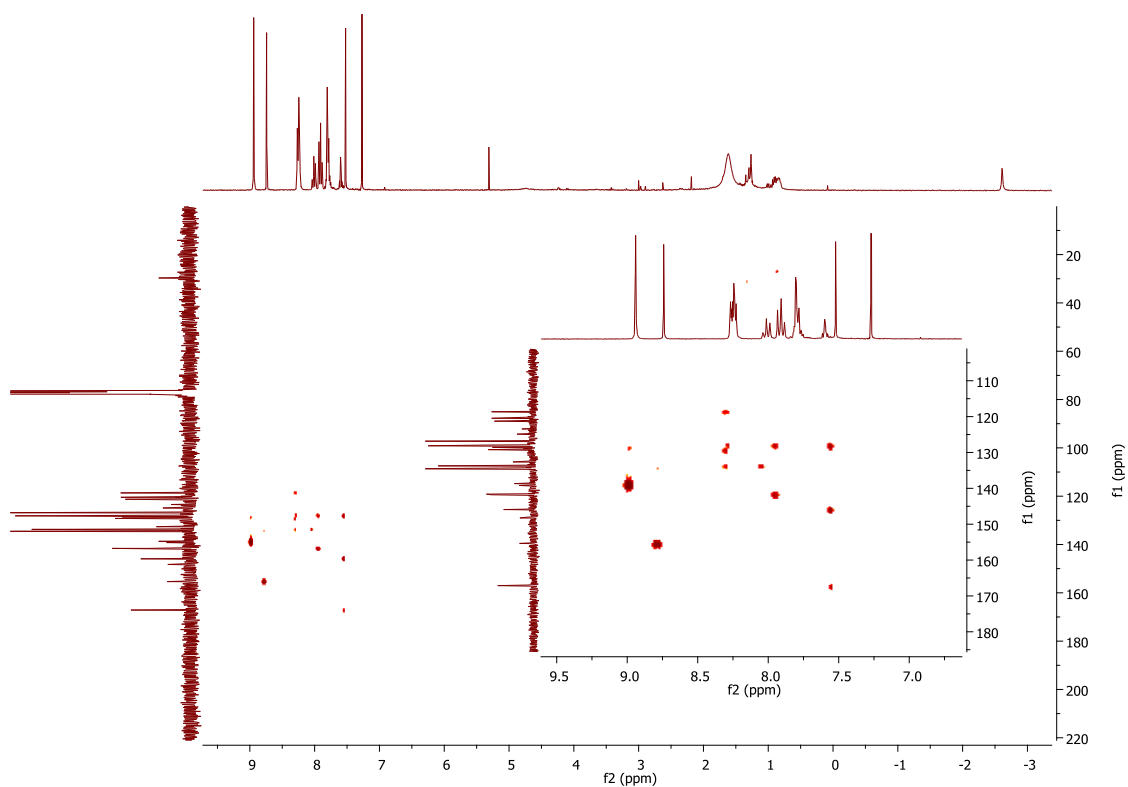


Figura P2.37. Espectro de HMBC do composto **20a**.

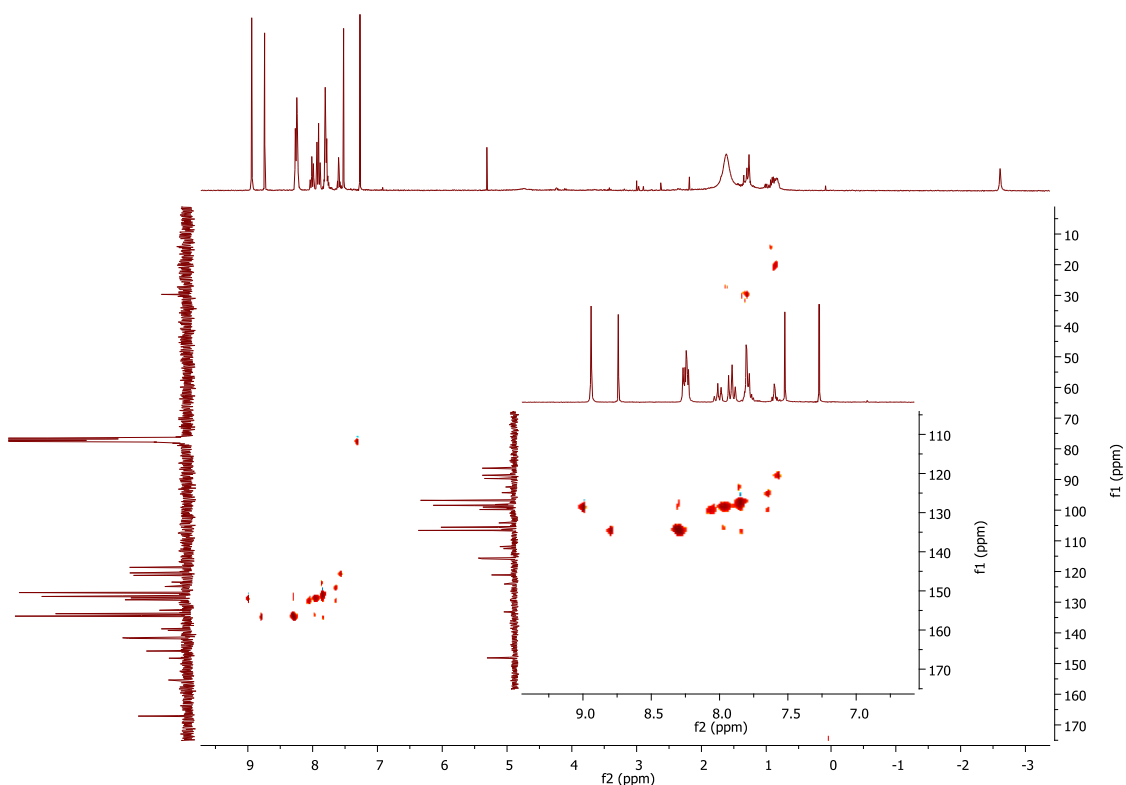
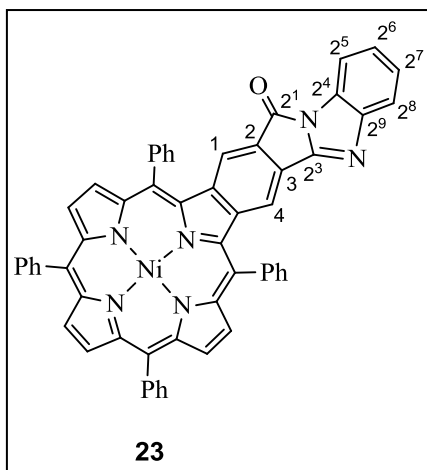


Figura P2.38. Espectro de HSQC do composto **20a**.

Síntese do composto **23**



A uma solução de ácido ftálico **14** (17,6 mg; 21,8 μmol) em 1,2,4-TCB (1,8 mL) foram adicionados peneiros moleculares (18,0 mg). A mistura foi refluxada durante 1 hora. Ao fim deste tempo observou-se por TLC total conversão do ácido ftálico de partida no respetivo anidrido ftálico. À mistura reacional foi adicionada uma solução de benzeno-1,2-diamina (2,4 mg, 1 equiv.) em piridina seca (1,5 mL). A mistura foi deixada a refluxar, num

banho de areia a 220 °C, durante 16 horas. Ao fim deste tempo, a reação foi dada por terminada. A mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, neutralizada com solução aquosa saturada de ácido cítrico e extraída com CH_2Cl_2 . O resíduo foi cromatografado em sílica gel, tendo-se usado dois eluentes: primeiro EP, de modo a remover o 1,2,4-TCB e depois CH_2Cl_2 para retirar o produto **23** (7,0 mg; 36%).

23: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,26-7,33 (m, 2H, $\text{H}2^5$ e $\text{H}2^8$, sobreposto com sinal de CHCl_3), 7,40 (s, 1H, H4); 7,48 (s, 1H, H1); 7,64-7,71 (m, 6H, Ph-H); 7,72-7,78 (m, 2H, $\text{H}2^6$ e $\text{H}2^7$); 7,80-7,85 (m, 4H, Ph-H); 7,89-7,99 (m, 10H, Ph-H); 8,66-8,69 (m, 4H, β -H); 8,76 (d, 1H, β -H, $J = 5,0$ Hz); 8,71 (d, 1H, β -H, $J = 5,0$ Hz); **RMN de ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3): 112,5 ($\text{C}2^6$ e $\text{C}2^7$); 116,3; 116,9; 118,1 ($\text{C}1$ ou $\text{C}4$); 120,1; 120,3; 121,2; 122,3 ($\text{C}1$ ou $\text{C}4$); 124,9 e 126,0 ($\text{C}2^5$ e $\text{C}2^8$); 127,1; 127,5; 128,0; 128,4; 129,0; 129,2; 129,9; 131,0; 132,1; 132,3; 132,7; 132,8; 132,9; 133,5; 136,3; 136,8; 140,0; 140,1; 141,4; 141,8; 141,9; 142,4; 142,5; 143,7; 144,1; 149,6; 156,9; 161,2; **HRMS (ESI): m/z** = 863,2052 (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+$ 863,2064); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 453 (4,99); 554 (4,07); 595 (4,11)

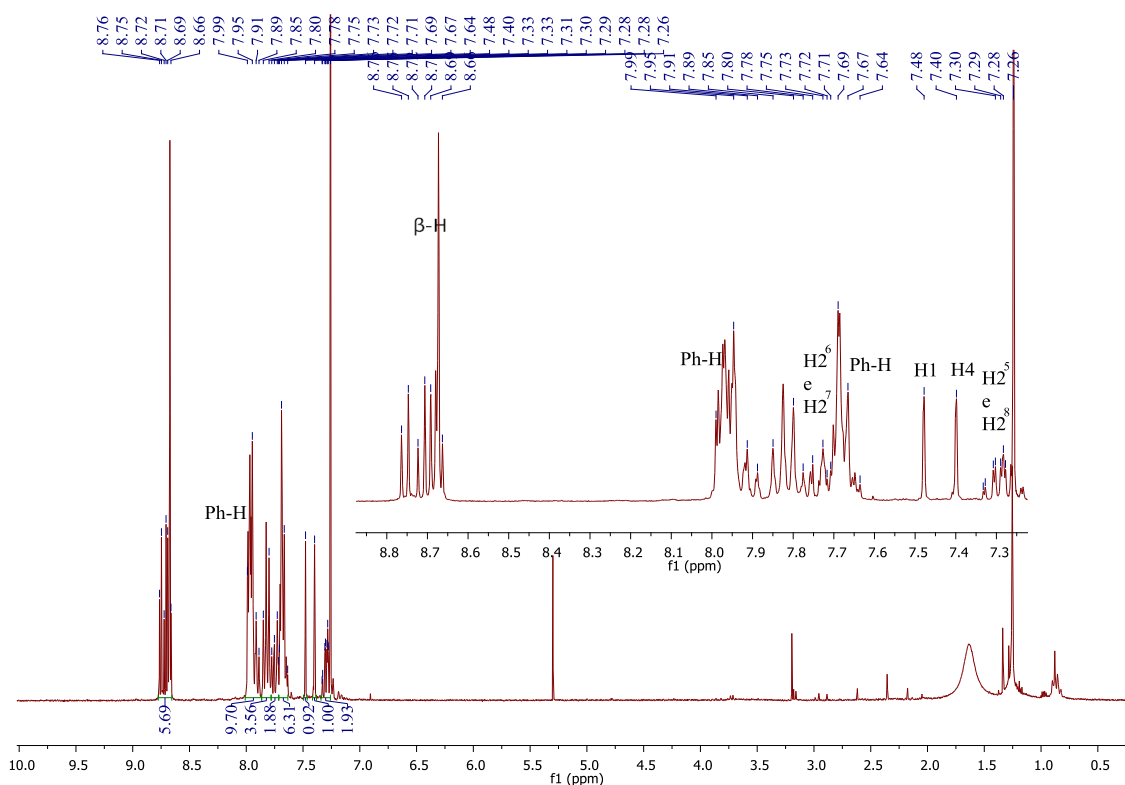


Figura P2.39. Espectro de RMN ^1H do composto **23**.

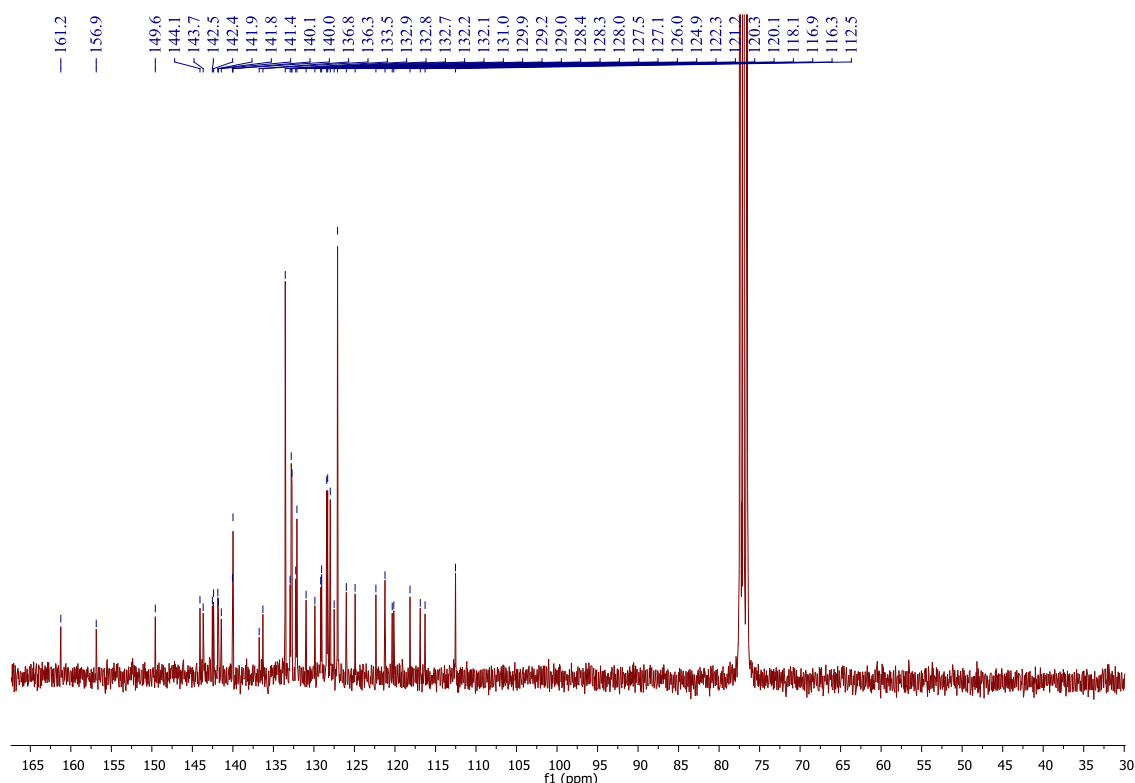
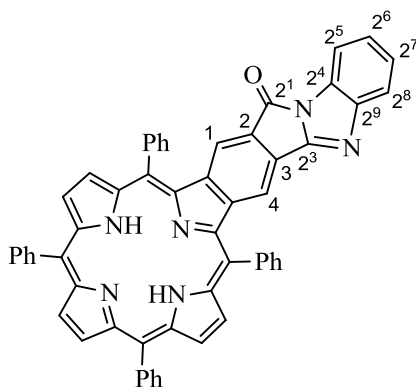


Figura P2.40. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **23**.

Síntese do composto **23a**



23a

Uma solução de composto **23** (5,0 mg) em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{SO}_4$ (9:1) (0,5 mL) foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO_3 e extraída com CH_2Cl_2 . O solvente foi evaporado até à secura e o produto **23a** foi obtido com um rendimento de 96% (4,5 mg).

23a: RMN de ^1H (500 MHz; CDCl_3): δ -2,60 (s, 2H, NH) 7,28-7,32 (m, 2H, H^{25} e H^{28} , sobreposto com sinal de CHCl_3), 7,40 (s, 1H, H^4); 7,49 (s, 1H, H^1); 7,72-7,80 (m, 8H, Ph-H); 7,88-7,95 (m, 4H, Ph-H); 8,01-8,07 (m, 2H, H^{26} e H^{27}); 8,21-8,25 (m, 8H, Ph-H); 8,71 (s, 2H, β -H); 8,87-8,91 (m, 4H, β -H); **RMN de ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3): 112,5; 118,3; 118,8 (C^1); 121,1; 121,3; 121,3; 122,8 (C^4); 124,8; 126,0; 126,9; 127,9; 128,1; 128,2; 128,6; 128,8; 129,1; 129,2; 130,0; 132,0; 133,79; 133,84; 134,2; 134,3; 134,6; 141,60; 141,64; 141,7; 141,8; 141,9; 149,6; 157,1;

161,5; 164,3; **HRMS (ESI):** $m/z = 807,2864$ (calcd. $[M+H]^+ 807,2867$); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 455 (5,11); 529 (4,18); 566 (3,89); 606 (3,78); 662 (3,26).

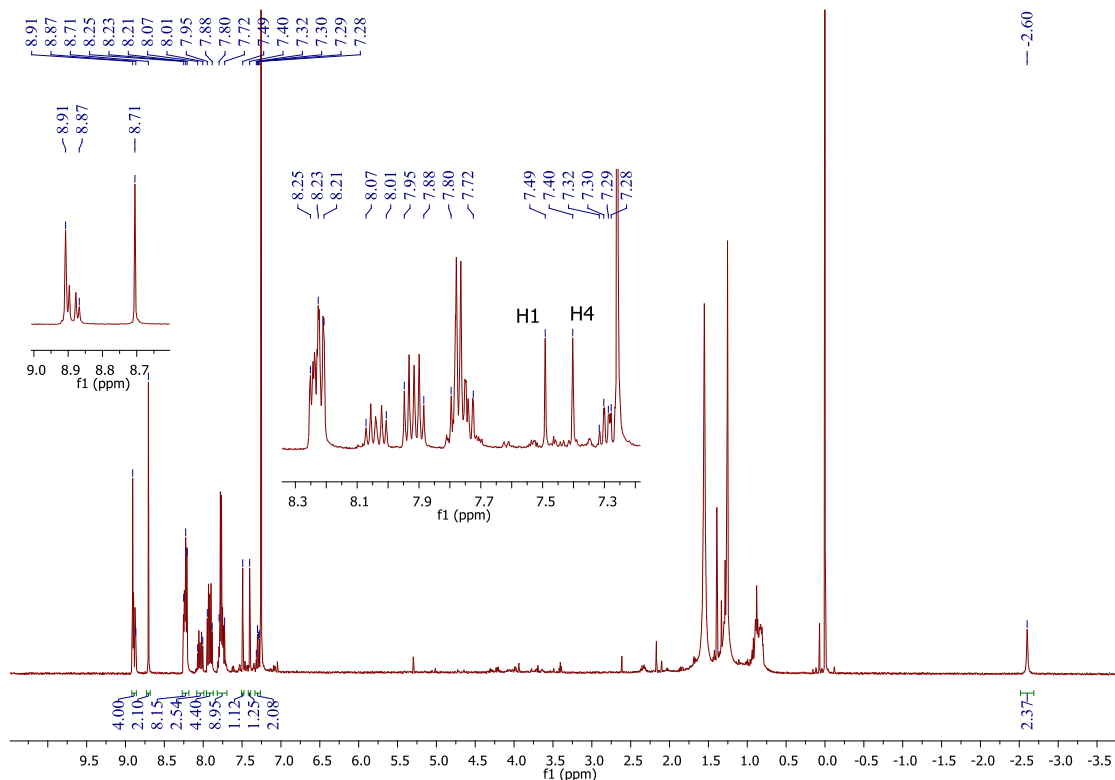


Figura P2.41. Espectro de RMN de ^1H do composto **23a**.

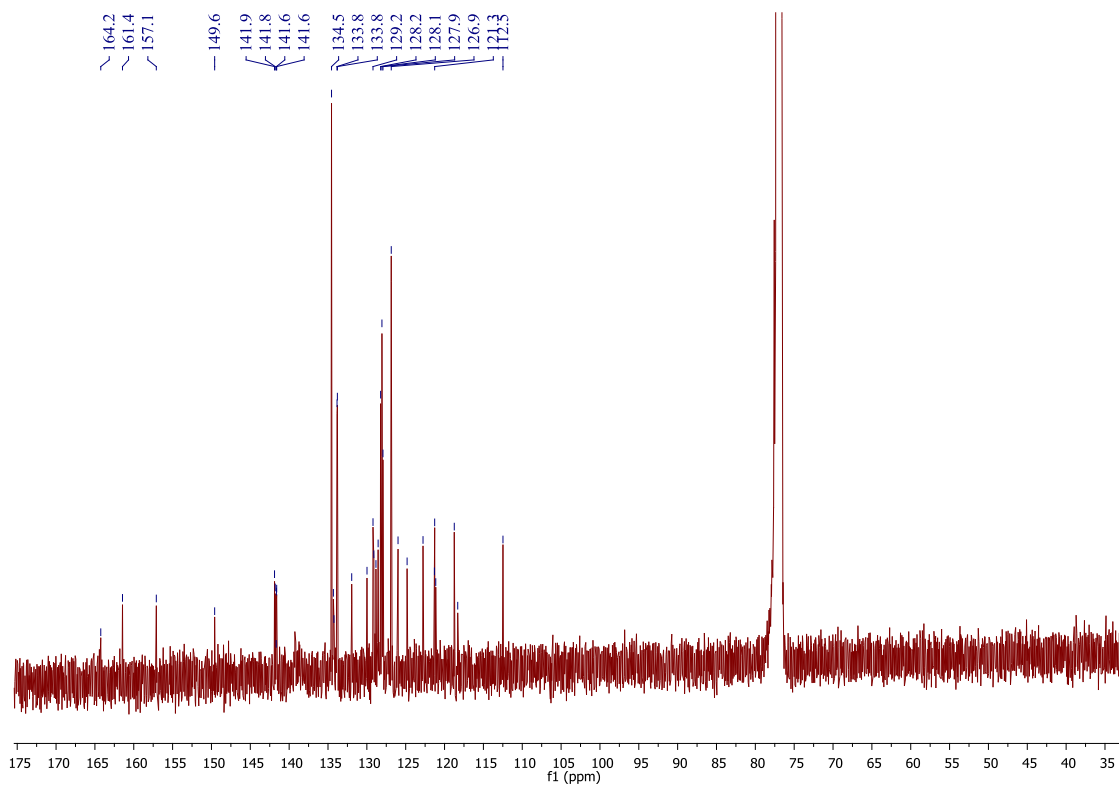


Figura P2.42. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **23a**.

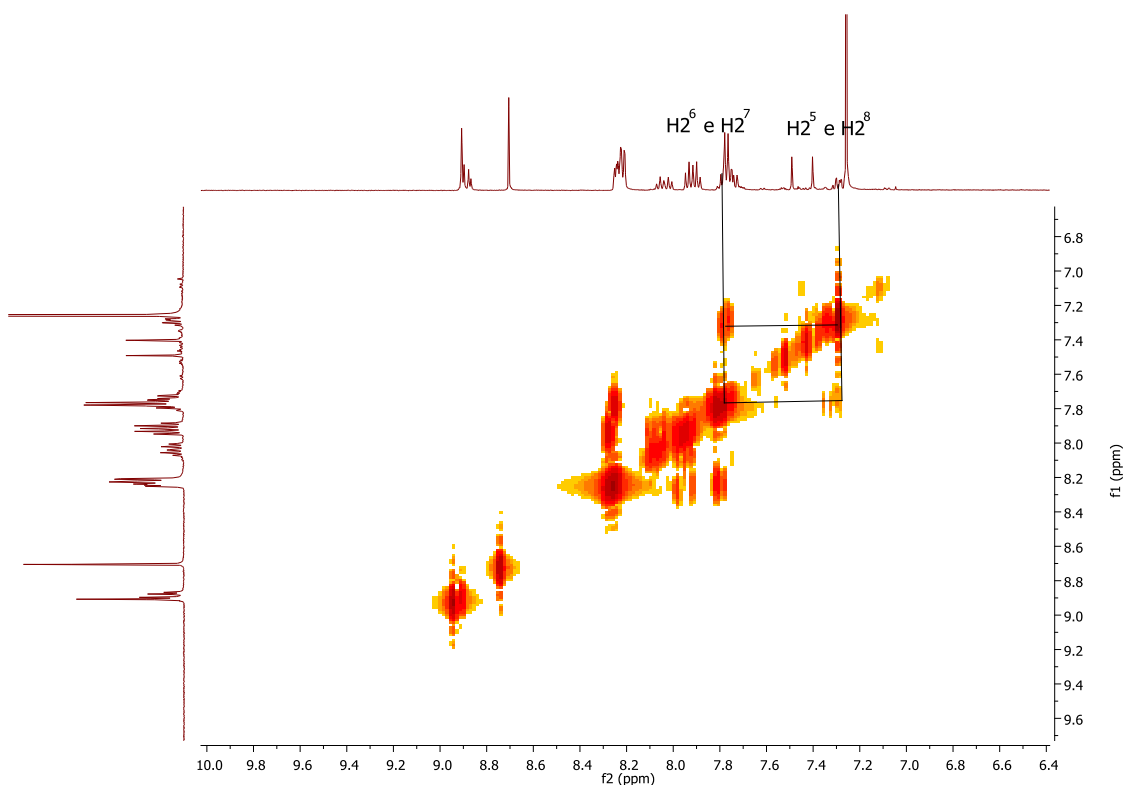
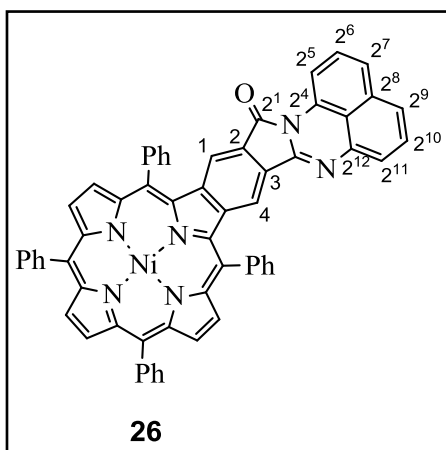


Figura P2.43. Espectro de COSY do composto **23a**.

Síntese do composto **26**



A uma solução de ácido ftálico **14** (17,5 mg; 21,7 μmol) em 1,2,4-TCB (1,8 mL) foram adicionados peneiros moleculares (18,0 mg). A mistura foi refluxada durante 1h. Ao fim deste tempo observa-se por TLC total conversão do ácido ftálico de partida no respetivo anidrido ftálico. À mistura reacional é adicionada uma solução de naftaleno-1,8-diamina (1,6 mg; 10,0 μmol ; 1 eq) em piridina seca (1,8 mL). A mistura foi deixada a refluxar,

numa banho de areia a 220 °C, durante 16h. Ao fim deste tempo, observando-se por TLC o consumo de todo o composto de partida, terminou-se a reação. A mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, neutralizada com solução aquosa saturada de ácido cítrico e extraída com CH_2Cl_2 . O resíduo foi cromatografado em sílica gel, onde se usaram dois eluentes: primeiro EP, de modo a remover o 1,2,4-TCB e depois CH_2Cl_2 para retirar o produto **26** (6,0 mg, 30%).

26: RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 7,41-7,55 (m, 5H, H_2^6 - H_2^{11}); 7,60 (s, 1H, H1 ou H4); 7,66-7,71 (m, 6H, Ph-H); 7,79 (s, 1H, H1 ou H4); 7,82-7,88 (m, 4H, Ph-H); 7,94-8,01 (m, 10H, Ph-H); 8,51 (d, 1H, H_2^5 , $J = 7,5$ Hz); 8,68-8,70 (m, 4H, β -H); 8,75-8,78 (m, 2H, β -H); **RMN de ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3): δ 109,4 (C_2^5); 116,2; 116,4; 118,3 (C_1 ou C_4); 119,9; 120,3 (C_1 ou C_4); 120,4; 121,9 e 122,8 e 125,0 (3C de C_2^6 - C_2^{11}); 126,4; 127,1; 127,7 (1C de C_2^6 - C_2^{11}); 128,0; 128,5; 128,9; 129,1; 131,9; 132,1; 132,7; 132,8; 132,85; 132,92; 133,5; 134,1; 136,7; 139,7; 140,1; 140,2; 140,3; 142,2; 143,4; 143,67; 143,72; 149,1; 164,8; **HRMS (ESI)**: $m/z = 913,2211$ (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+$ 913,2220); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 447 (5,14); 555 (4,43); 596 (4,60).

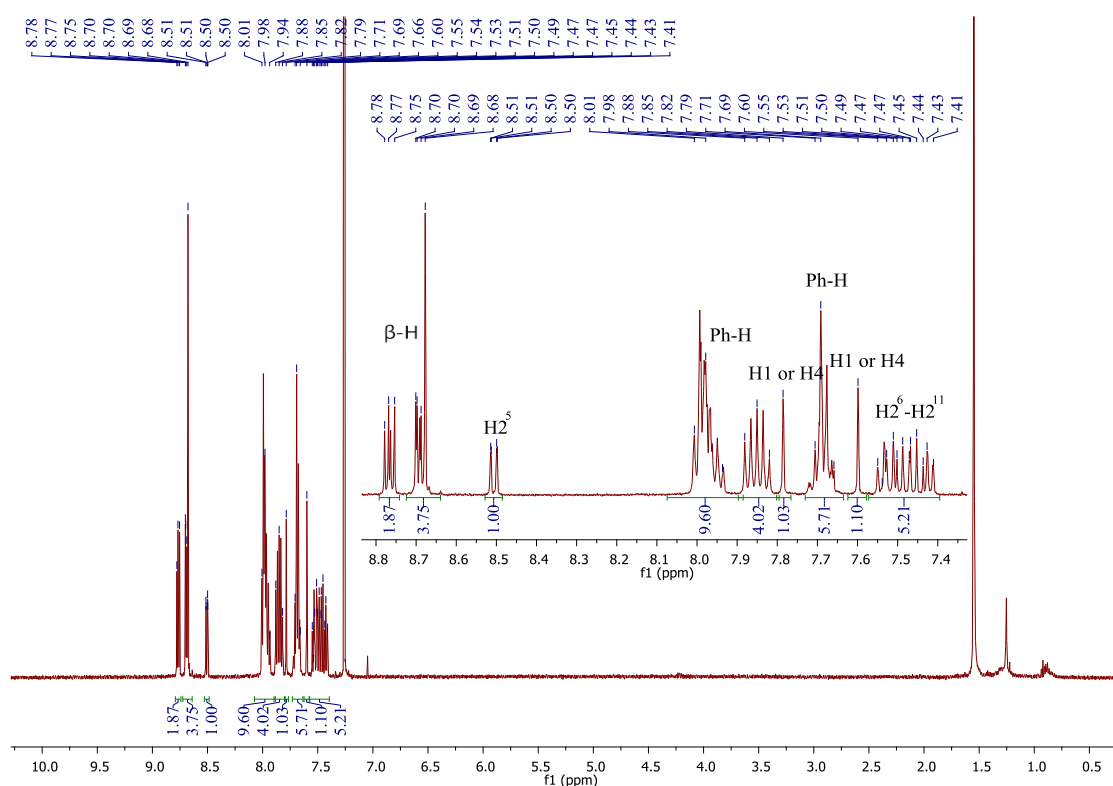


Figura P2.44. Espectro de RMN de ^1H do composto **26**.

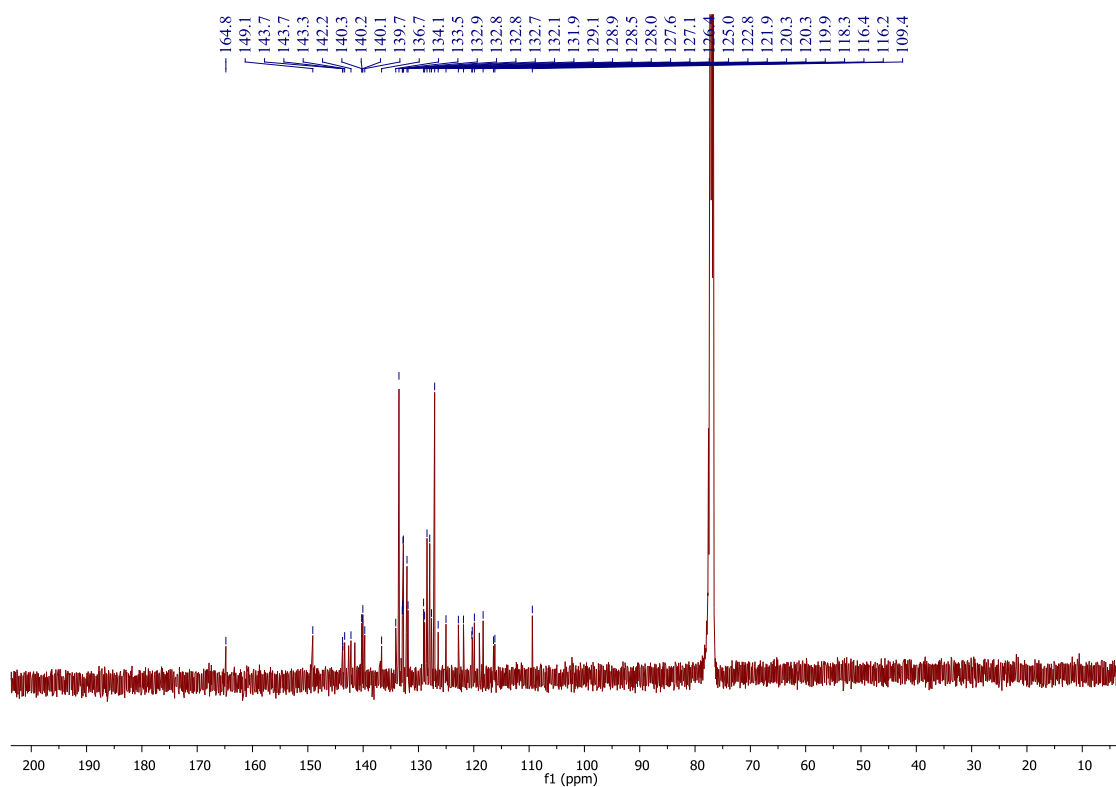


Figura P2.45. Espectro de ^{13}C NMR do composto **26**.

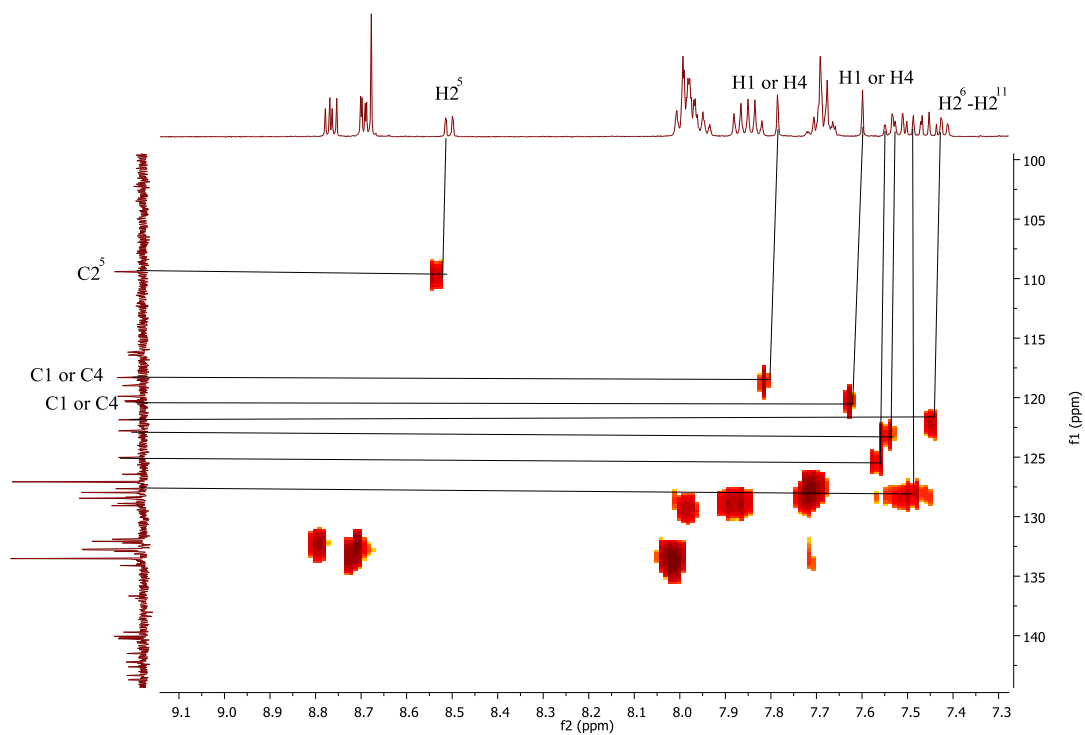
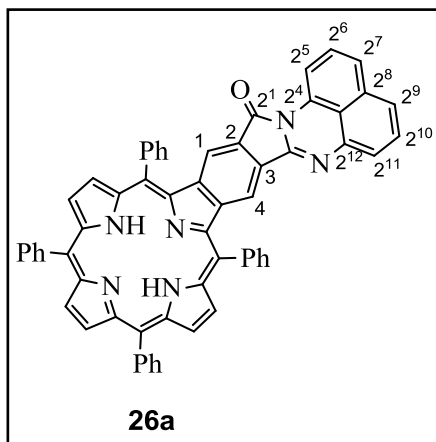


Figura P2.46. Espectro parcial de HSQC do composto **26**.

Síntese do composto 26a



Uma solução de composto **26** (5,0 mg) em CH₂Cl₂/H₂SO₄ (9:1) (0,5 mL) foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO₃ e extraída com CH₂Cl₂. O solvente foi evaporado até à secura e o produto **26a** foi obtido com um rendimento de 96% (4,5 mg).

26a: RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ -2,81 (s, 2H, NH internos); 6,98-7,06, 7,13-7,18 e 7.23-7.28 (3m, 5H, H2⁶-H2¹¹, sobrepostos com sinais de impurezas e/ou solventes); 7,51(s, 1H, H1); 7.67 (s, 1H, H4); 7,75-7,81 (m, 6H, Ph-H); 7,92-7,99 (m, 4H, Ph-H); 8,04-8,10 (m, 2H, Ph-H); 8,15 (d, 1H, H2⁵, *J* = 6,8 Hz), 8,22-8,28 (m, 8H, Ph-H); 8.70 (s, 2H, β-H); 8,88-8,91 (sistema AB, 4H, β-H, *J* = 5,0 Hz); **RMN de ¹³C** (75 MHz, CDCl₃): δ 108,8; 118,1; 118,2; 118,4 (C4); 118,7 (C1); 120,2; 121,2; 121,6; 122,1; 124,5; 125,3; 126,9; 127,0; 127,2; 127,4; 127, 9; 128,15; 128,22; 128,9; 129,0; 129,3; 131,7; 133,5; 133,7; 133,8; 134,1; 134,6; 138,4; 139,3; 141,7; 142,1; 144,6; 145,2; 148,9; 164,7; **HRMS (ESI):** *m/z* =857,3025 (calcd. [M+H]⁺ 857,3023); **UV-vis** (CHCl₃) λ_{max} (log ε) 442 (5,22); 528 (4,42); 573 (4,39); 604 (4,11); 663 (3,24).

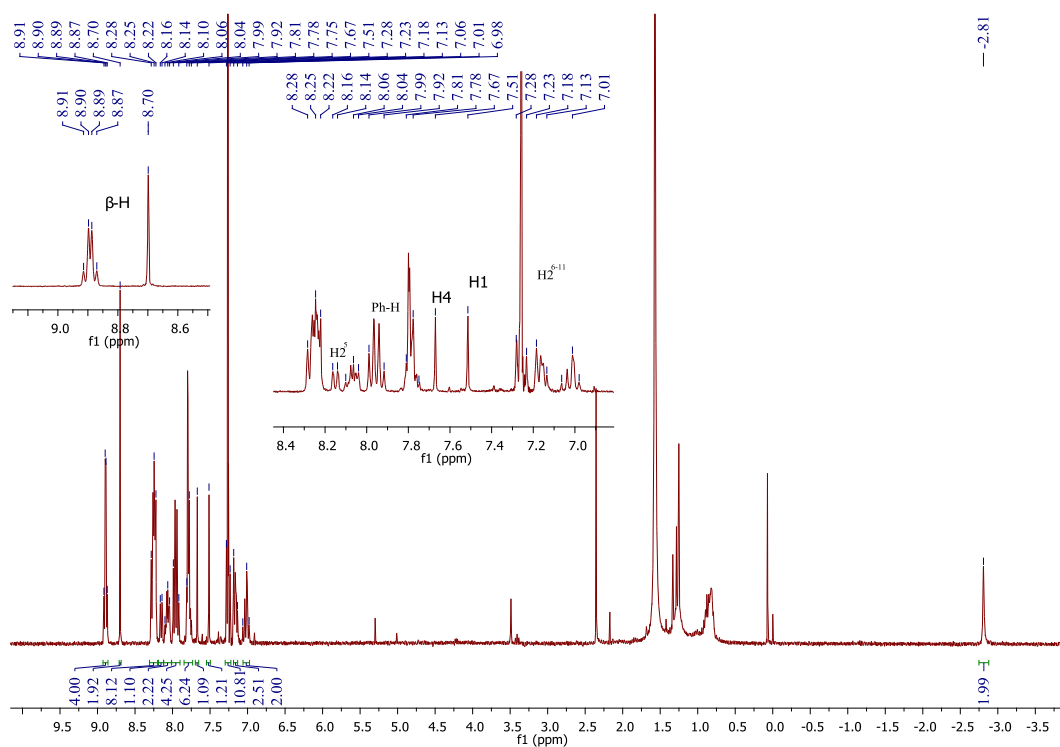


Figura P2.47. Espectro de RMN de ^1H do composto **26a**.

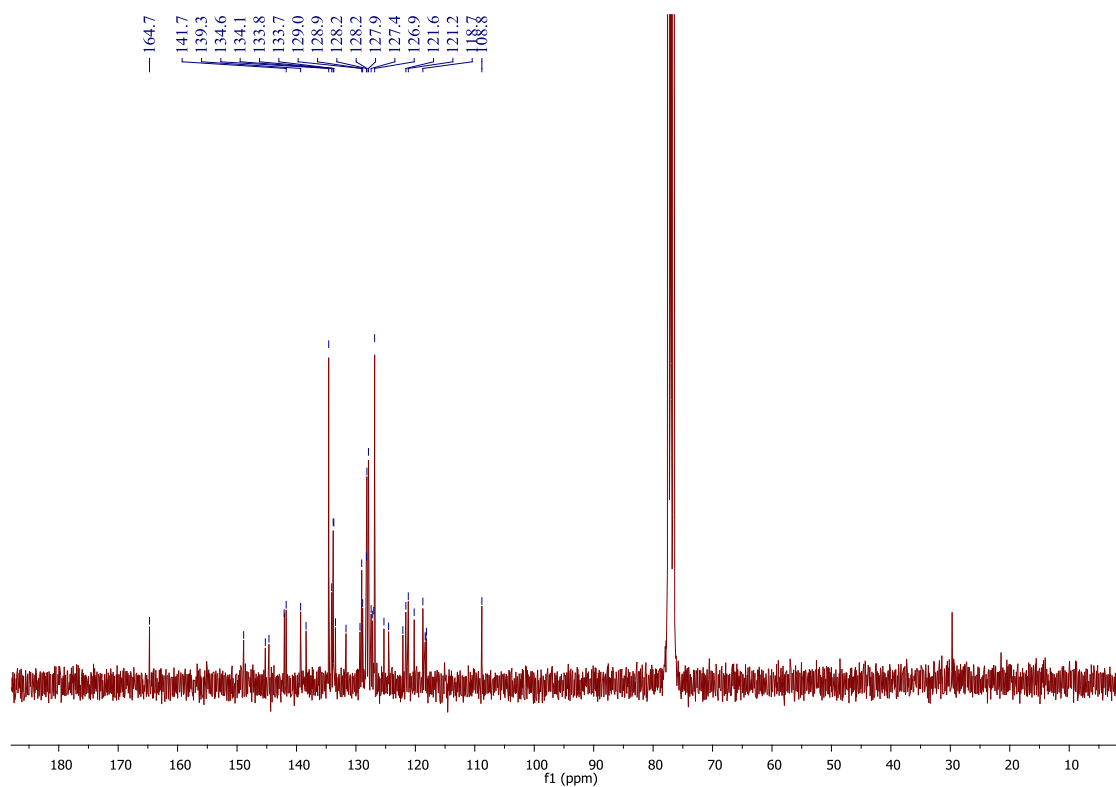


Figura P2.48. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **26a**.

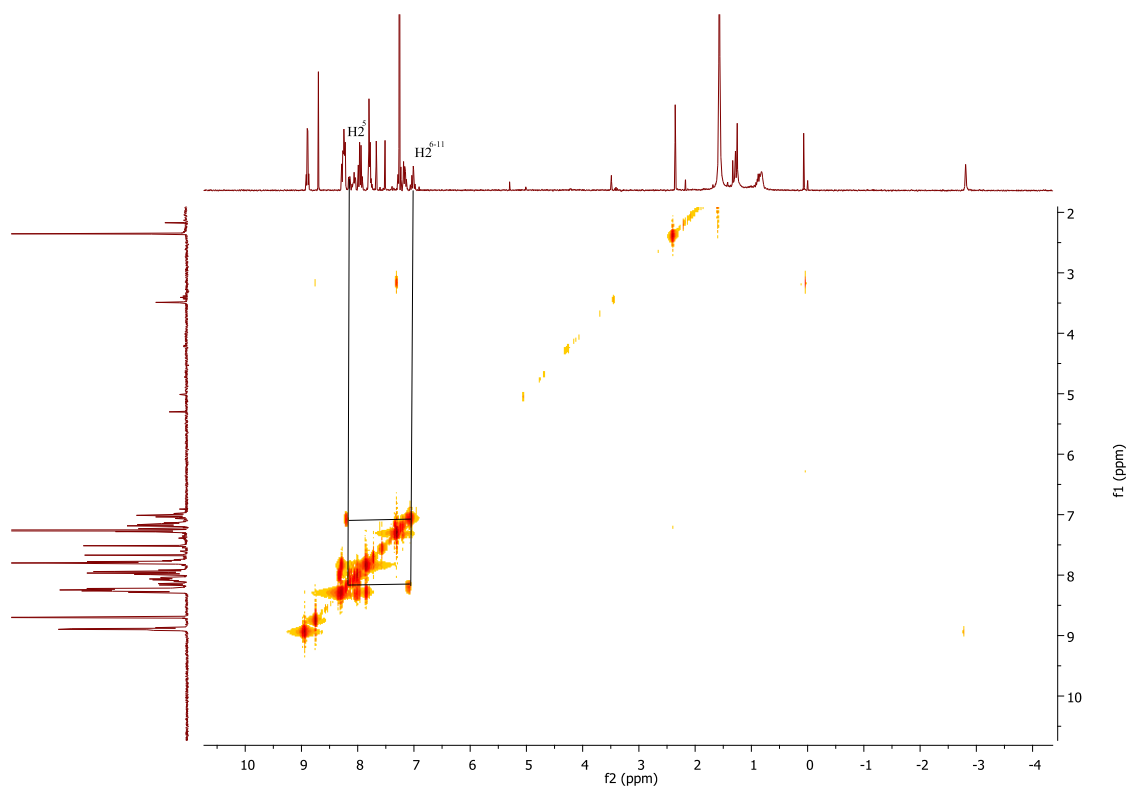


Figura P2.49. Espectro de COSY do composto **26a**.

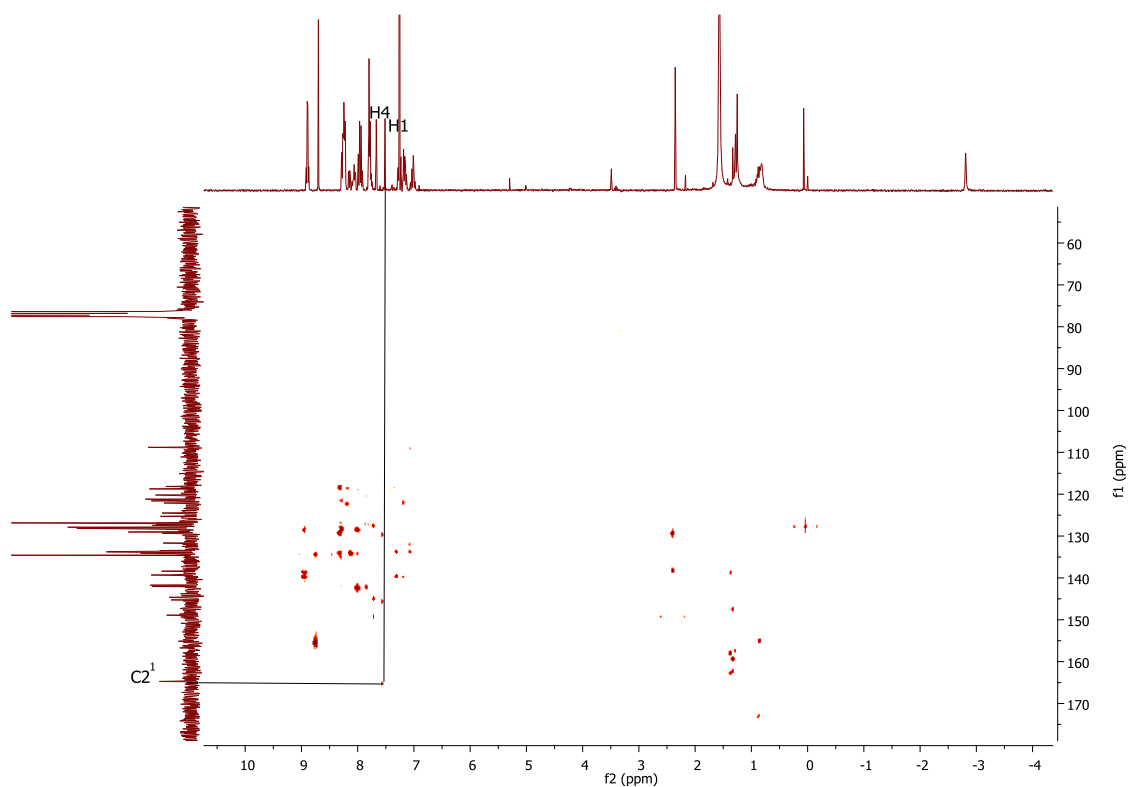


Figura P2.50. Espectro de HMBC do composto **26a**.

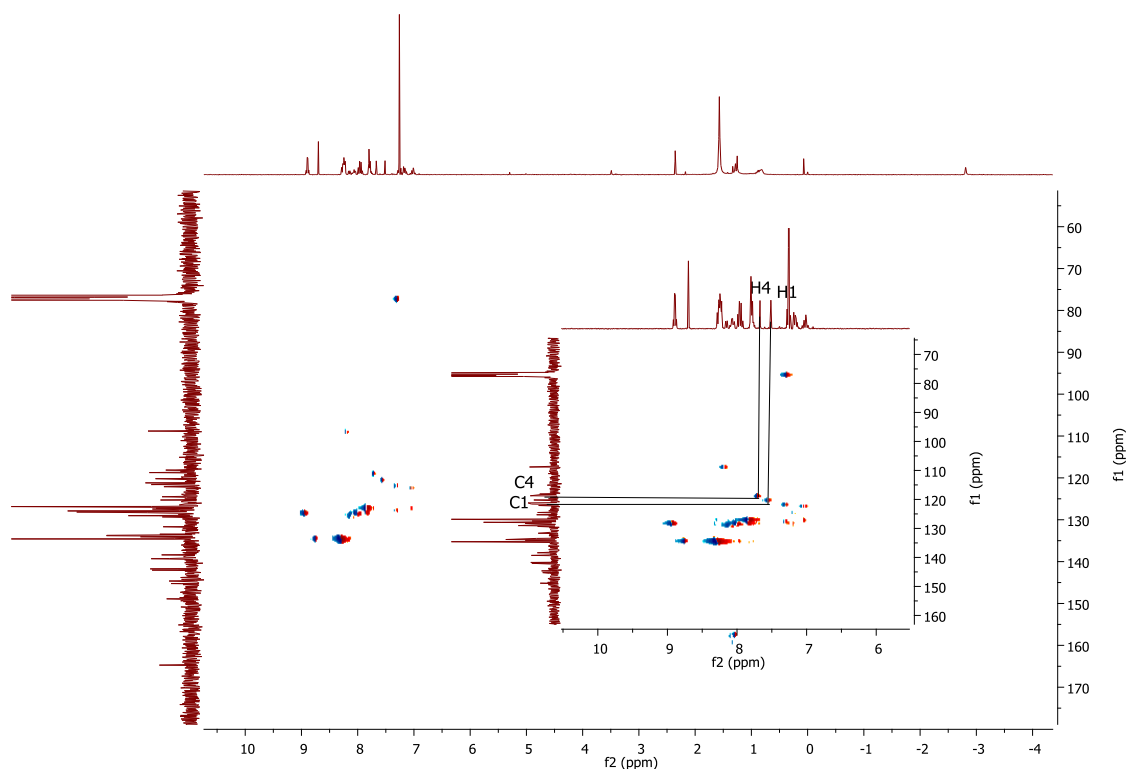
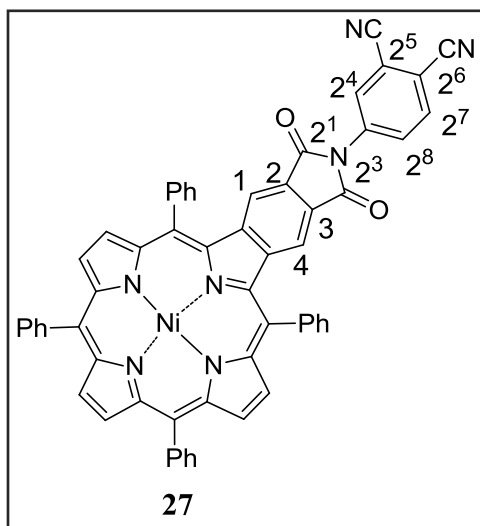


Figura P2.51. Espectro de HSQC do composto **26a**.

Síntese do ftalonitrilo **27**



A uma solução de ácido ftálico **14** (8.0 mg, 10.5 μmol) em 1,2,4-TCB (1 mL) foram adicionados peneiros moleculares (8.5 mg). A mistura foi refluxada durante 1h. Ao fim deste tempo observa-se por TLC total conversão do ácido ftálico de partida no respetivo anidrido ftálico. À mistura reacional é adicionada uma solução de 4-aminoftalonitrilo (25.0 mg, 174.7 μmol , ~17 eq) em piridina seca (1 mL). A mistura é deixada a refluxar a 220 °C durante 24h. Ao fim deste

tempo, observando-se por TLC o consumo de todo o composto de partida, terminou-se a reação. A mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, neutralizada com solução saturada de ácido cítrico, extraída com CH_2Cl_2 , e seca em Na_2SO_4 anidro. O

resíduo foi cromatografado em sílica gel, onde se usaram dois eluentes: primeiro EP, de modo a remover o TCB e depois CH₂Cl₂ para retirar o produto **27** (6,0 mg, 62%).

27: RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7,53 (s, 2H, H1,4); 7,66-7,72, 7,78-7,83, 7,87-7,99 (3m, 21H, Ph-H e H2⁷); 8,08 (dd, 1H, H2⁸, *J* = 8,6; 2,1 Hz); 8,20 (d, 1H, H2⁴, *J* = 2,1 Hz), 8,71 (m, 4H, β-H), 8,78 (d, 2H, β-H, *J* = 5,0 Hz); **RMN de ¹³C** (75 MHz, CDCl₃): δ 113,9; 115,2; 115,5; 117,1; 117,3; 120,9; 121,1; 126,3; 127,6; 128,6; 128,9; 129,5; 129,6; 129,9; 132,8; 133,05; 133,13; 133,6; 134,0; 134,5; 136,4; 137,4; 140,2; 140,4; 142,6; 143,1; 143,9; 144,3; 145,2; 166,5; **HRMS (ESI):** *m/z* = 915,1878 (calcd. [M]⁺⁺ 915,1887); **UV-vis** (CHCl₃) λ_{max} (log ε) 452 (5,17); 555 (4,27); 596 (4,27).

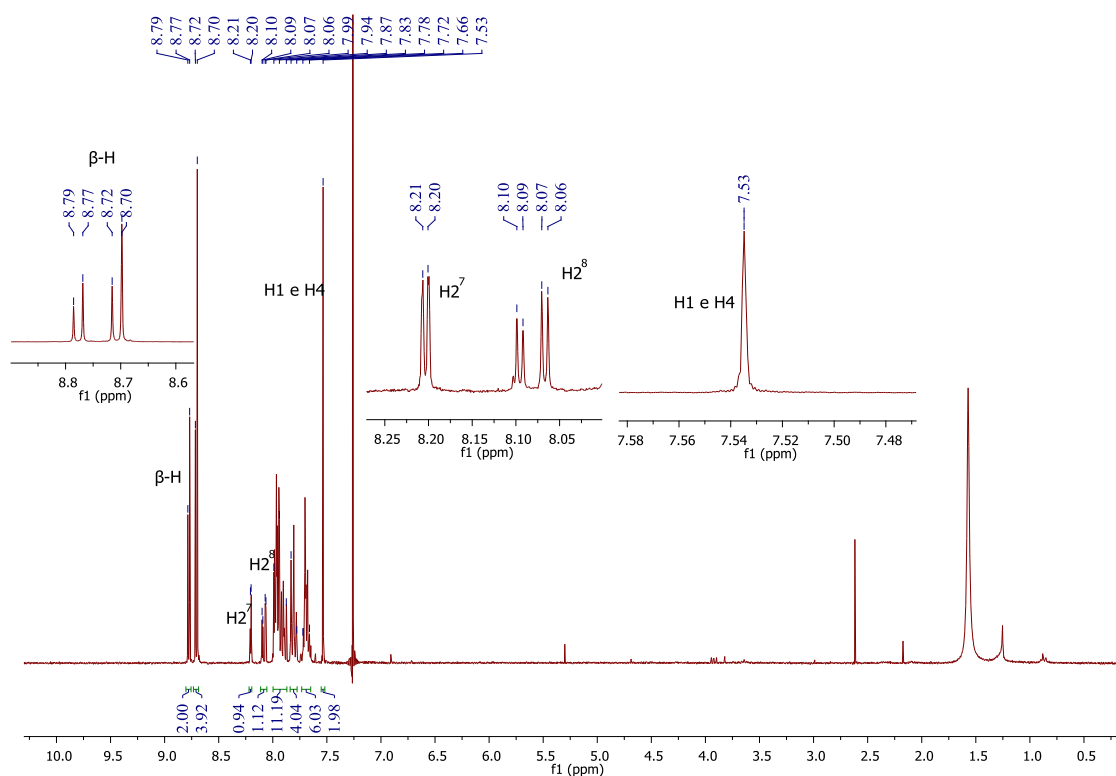


Figura P2.52. Espectro de RMN de ¹H do composto **27**.

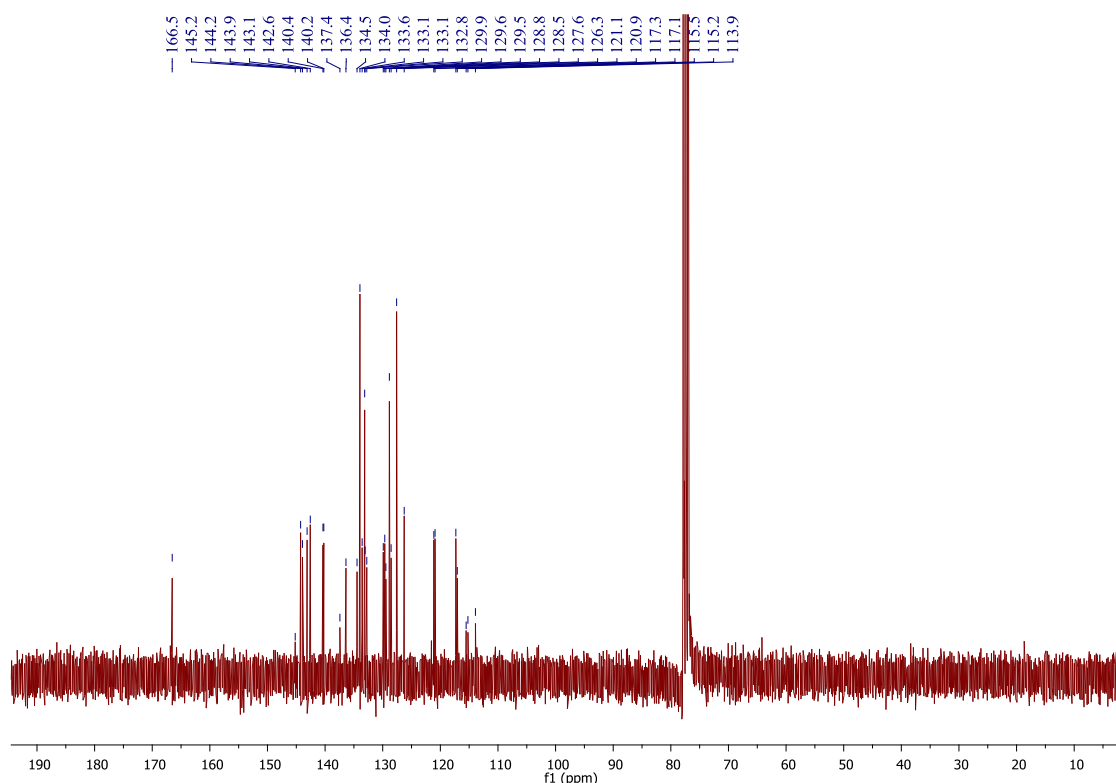
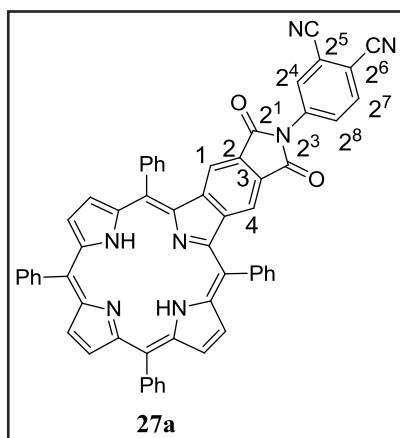


Figura P2.53. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **27**.

Síntese do ftalonitrilo **27a**



Uma solução de composto **27** (5,0 mg) em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{SO}_4$ (9:1) (0,5 mL), foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO_3 e extraída com CH_2Cl_2 . O solvente foi evaporado até à secura e o produto **27a** foi obtido com um rendimento quantitativo (4,6 mg).

27a: RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ -2,64 (s, 2H, NH); 7,50 (s, 2H, H1,4); 7,76-7,83 (m, 6H, Ph-H); 7,85 (d, 1H, H2⁷, $J = 8,5$ Hz); 7,88-7,93 (m, 4H, Ph-H); 8,01-8,04 (m, 2H, Ph-H); 8,07 (dd, 1H, H2⁸, $J = 8,5$; 2,1 Hz); 8,20-8,25 (m, 9H, 8Ph-H e H2⁴); 8,74 (s, 2H, β -H); 8,93 e 8,96 (sistema AB, 4H, $J = 5,1$ Hz); RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3):

δ 113,3; 114,8; 115,1; 116,6; 118,7; 121,0; 121,5; 126,9; 126,9; 127,0; 127,9; 128,0; 128,1; 128,2; 128,8; 128,9; 129,2; 129,4; 133,7; 134,0; 134,5; 137,0; 138,9; 139,1; 141,4; 141,7; 146,2; 147,6; 155,7; 166,25; **HRMS (ESI):** m/z = 860,2764 (calcd. $[M+H]^+$ 860,2769); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 449 (5,17); 529 (4,28); 567 (3,92); 608 (3,88); 665 (3,37).

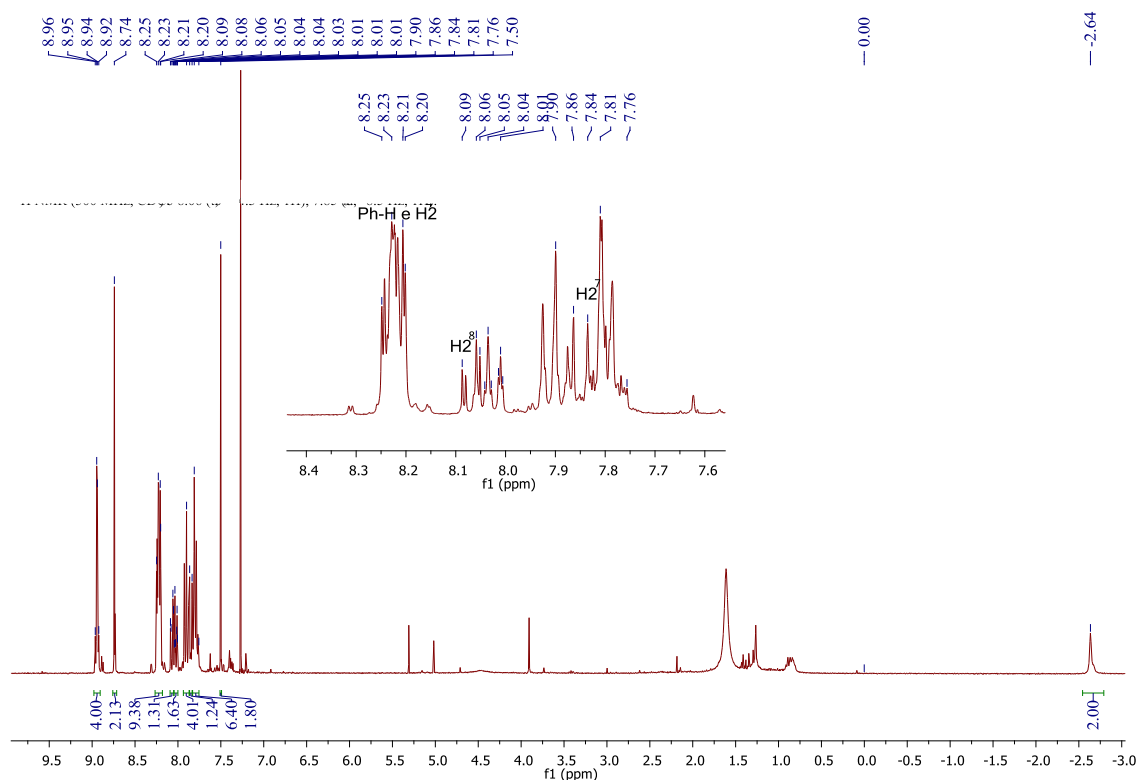


Figura P2.54. Espectro de RMN de ^1H do composto **27a**.

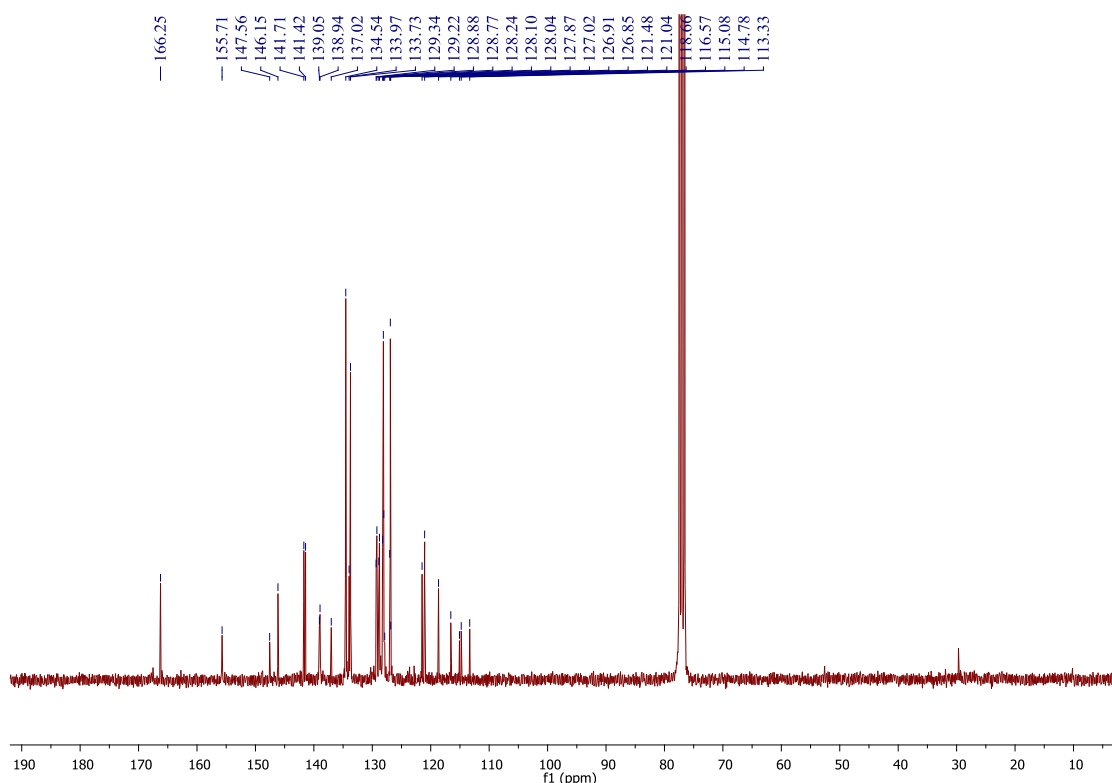
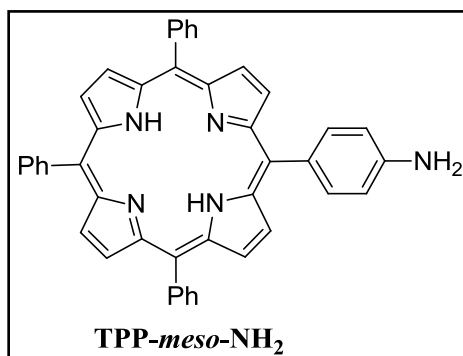


Figura P2.55. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **27a**.

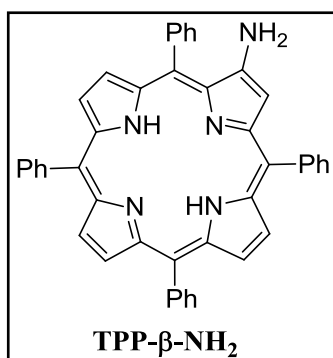
Síntese da TPP-*meso*-NH₂



A uma solução de **TPP** (100 mg, 0,163 mmol) em TFA (10 mL) foi adicionado nitrito de sódio (20 mg, 0,29 mmol). Depois de 3 minutos em agitação à temperatura ambiente, a mistura reacional foi adicionada a 100 mL de água destilada e extraída com CH₂Cl₂. A fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de NaHCO₃ e água, extraída com CH₂Cl₂ e seca em Na₂SO₄. Depois de removido o solvente sob pressão reduzida, o resíduo foi purificado em sílica gel usando como eluente CH₂Cl₂/EP (2:1). A primeira fração recolhida era constituída pela **TPP** que não reagiu, a segunda constituída pela porfirina mononitrada em posição *para* de um grupo fenilo e a terceira fração constituída pelos produtos resultantes da polinitração. O resíduo do derivado mononitrado foi dissolvido em HCl concentrado (10 mL) e colocado em agitação. A esta solução foi adicionado, lentamente, cloreto de estanho(II) (220 mg, 0,095 mmol). A mistura final foi aquecida a 65 °C durante 1 hora sob atmosfera de azoto. Findo este

tempo a mistura reacional foi adicionada a 100 mL de água destilada fria. Seguiu-se a neutralização da solução aquosa até pH=8 com hidróxido de amônio. Esta solução aquosa foi extraída com CH₂Cl₂ e a fase orgânica seca em sulfato de sódio anidro. Depois de removido o solvente sob vácuo, o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel usando como eluente CH₂Cl₂. A porfirimina **TPP-meso-NH₂** pretendida foi obtida, após cristalização em CH₂Cl₂/EP, com um rendimento de 78%.

Síntese da TPP-β-NH₂

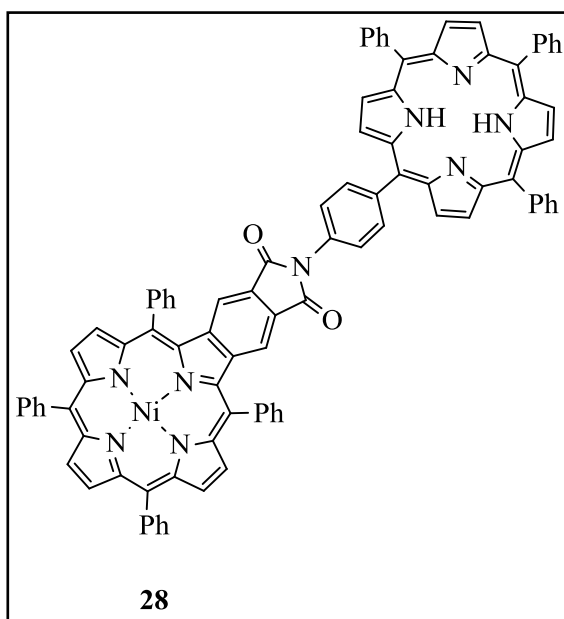


A uma solução de **TPP** (500,0 mg, 814 μmol) em CHCl₃ (500 mL) foi adicionado nitrato de cobre tri-hidratado (500 mg; 2,1 mmol; 2,6 equiv.) dissolvido numa mistura de anidrido acético (50 mL) e ácido acético (10 mL). A mistura foi aquecida a 30 °C e mantida em agitação até à conversão quase completa da porfirimina inicial (cerca de 32 horas). Os

solventes foram evaporados até a secura, o resíduo obtido foi dissolvido em CH₂Cl₂ e sujeito a cromatografia em coluna de sílica gel usando uma mistura EP/ tolueno (1:2) como eluente, obtendo-se o 2-nitro5,10,15,20-tetrafenilporfirinato de Cu(II). Este derivado nitrado, após ter sido cristalizado em CH₂Cl₂/EP, foi obtido com um rendimento de 89% (520,0 mg). A remoção do cobre do derivado nitrado ocorreu por dissolução de 375 mg (0,521 mmol) deste composto em CH₂Cl₂ (102 mL) e ácido sulfúrico concentrado (10,2 mL) sob agitação intensa à temperatura ambiente durante 10 minutos. A mistura reacional foi neutralizada com uma solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio, lavada com água destilada e extraída com CH₂Cl₂. Após a remoção do solvente a pressão reduzida, o resíduo obtido foi retomado em CH₂Cl₂ e purificado através de uma coluna de sílica gel. A 2-nitro5,10,15,20-tetrafenilporfirimina foi cristalizada em CH₂Cl₂/EP, e obtida com um rendimento de 65% (223,4 mg). A redução do grupo nitro ocorreu por dissolução de 0,084 mmol de 2-nitro5,10,15,20-tetrafenilporfirimina em CHCl₃ (7 mL) e adição de estanho em pó (1g; 8,43 mmol; 100,4 equiv.) e ácido clorídrico concentrado (3,55 mL). A reação foi mantida sob agitação vigorosa, à temperatura ambiente, durante aproximadamente 2 horas. Findo este tempo, o meio reacional foi neutralizado com uma solução saturada de hidrogenocarbonato de sódio, extraído com CH₂Cl₂ e a fase orgânica foi seca através de sulfato de sódio anidro.

Depois de se ter procedido à evaporação do solvente, o resíduo obtido foi redissolvido em CH_2Cl_2 e foi purificado por uma coluna de sílica gel, usando uma mistura de EP/ CH_2Cl_2 (1:1) como eluente. A **TPP- β -NH₂**, após cristalização em CH_2Cl_2 /EP, foi isolada com um rendimento de 71%.

Síntese da díade **28**



A uma solução de ácido ftálico **14** (8,9 mg; 11,0 μmol) em 1,2,4-TCB (1 mL) foram adicionados peneiros moleculares (9,0 mg). A mistura foi refluxada durante 1 hora. Ao fim deste tempo observa-se por TLC total conversão, do ácido ftálico de partida, no respetivo anidrido ftálico **15**. À mistura reacional foi adicionada uma solução de **TPP- β -NH₂** (1 equiv., 7,0 mg) em piridina seca (1 mL). A mistura foi refluxada, num banho de areia a 220 °C, durante 72 h. Ao fim deste tempo

observou-se por TLC total consumo dos dois reagentes de partida e aparecimento de um novo composto que foi identificado como sendo a díade **28**. A mistura reacional foi arrefecida até à temperatura ambiente, neutralizada com solução aquosa saturada de ácido cítrico, extraída com CH_2Cl_2 , e seca em Na_2SO_4 anidro. O resíduo foi cromatografado em sílica gel, onde se usaram dois eluentes: primeiro EP, de modo a remover o 1,2,4-TCB e depois CH_2Cl_2 /EP 4:1 para retirar o produto **28** (9,6 mg, 62%).

28: RMN de ¹H (300 MHz, CDCl_3): δ -2,78 (s, 2H, NH); 7,60 (s, 2H, H1,4); 7,67-7,79 (m, 16H, Ph-H); 7,83-7,95 (m, 8H, Ph-H); 7,99-8,03 (m, 8H, Ph-H); 8,21-8,25 (m, 6H, Ph-H); 8,34 (d, 2H, Ph-H, $J = 8,3$ Hz); 8,72-8,74 (m, 4H, β -H); 8,83 (d, 2H, β -H, $J = 5,0$ Hz); 8,86-8,93 (m, 8H, β -H); **RMN de ¹³C** (75 MHz, CDCl_3): δ 116,8; 119,0; 120,2; 120,3; 120,36; 124,42; 126,7; 127,1; 127,2; 127,7; 128,0; 128,5; 129,2; 131,8; 132,2; 132,4; 132,8; 133,0; 133,6; 134,6; 134,9; 136,4; 140,0; 140,1; 141,6; 141,9; 142,1; 142,5; 143,6; 143,7; 167,6; **HRMS (ESI)**: $m/z = 1402,4094$ (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1402,4062);

UV-vis (CHCl₃) λ_{max} (log ϵ) 417 (5,59); 446 (5,38); 513 (4,46); 550 (4,53); 589 (4,46); 645 (3,96).

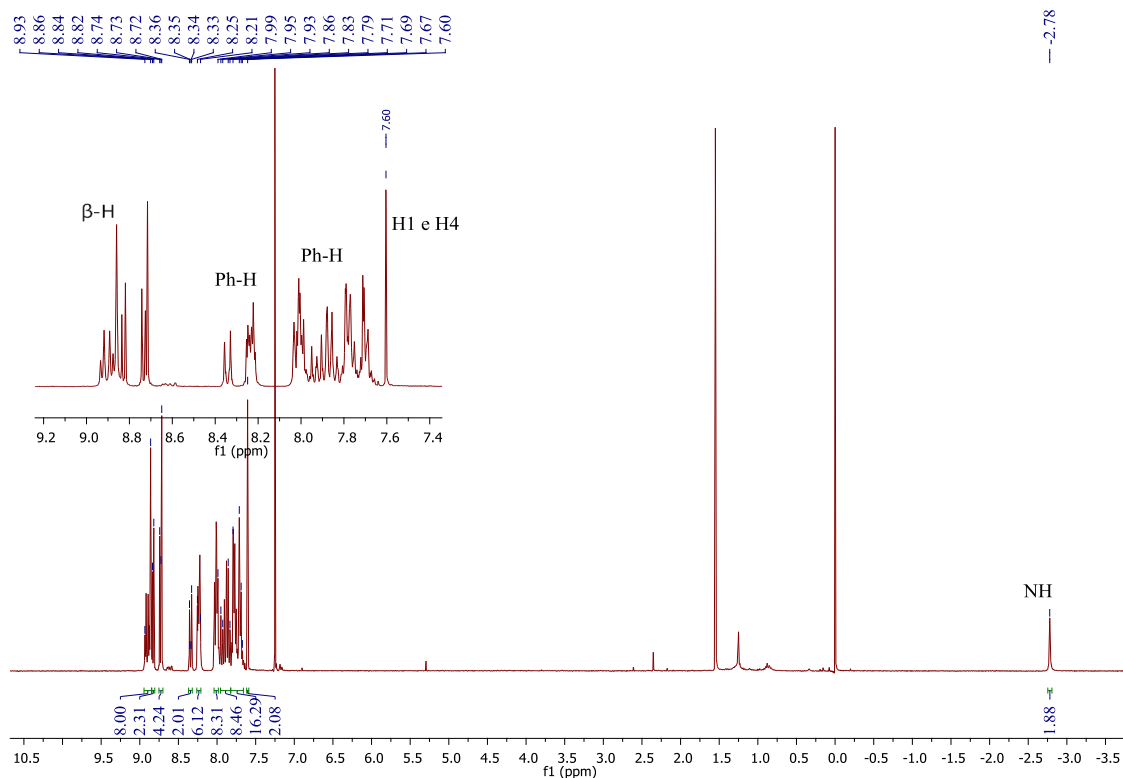


Figura P2.56. Espectro de RMN de ¹H do composto **28**.

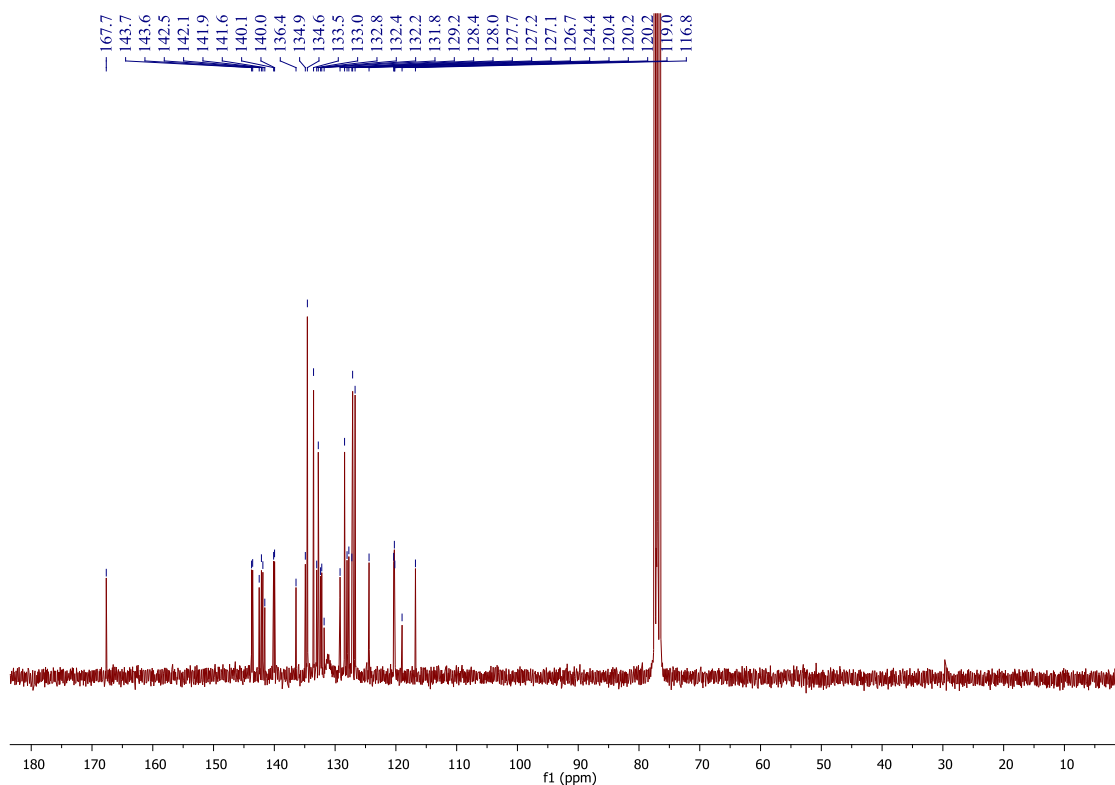
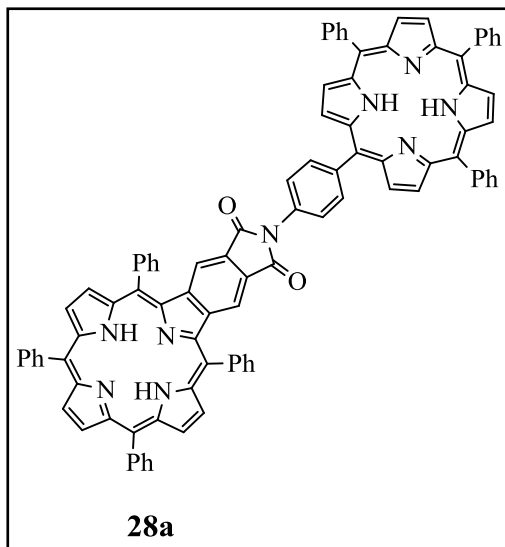


Figura P2.57. Espectro de RMN de ¹³C do composto **28**.

Síntese da díade **28a**



Uma solução de composto **28** (3,0 mg) em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{SO}_4$ (9:1) (0,3 mL) foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO_3 e extraída com CH_2Cl_2 . O solvente foi evaporado até à secura e o produto **28a** foi obtido com um rendimento quantitativo (2,8 mg).

28a: RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ -2,76 (s, 2H, NH internos); -2,59 (s, 2H, NH internos); 7.60 (s, 2H, H1,4); 7,76-7,82, 7,90-7,98, 8,04-8,09, 8,23-8,37 (4m, 40H, Ph-H); 8,75 (s, 2H, β -H); 8,86-8,99 (m, 12H, β -H); **RMN de ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3): δ : 118,7; 119,0; 120,2; 120,6; 121,36; 124,44; 126,7; 126,9; 127,7; 128,0; 128,2; 128,4; 128,7; 129,2; 131,9; 133,8; 134,4; 134,6; 134,9; 138,8; 139,2; 141,6; 141,9; 142,2; 146,0; 148,3; 155,5; 167,9; **HRMS (ESI):** m/z = 1346,4865 (calcd. $[\text{M}]^{++}$ 1346,4918); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 417 (5,43); 443 (5,38); 523 (4,38); 555 (3,97); 602 (3,90); 644 (3,53); 657 (3,30).

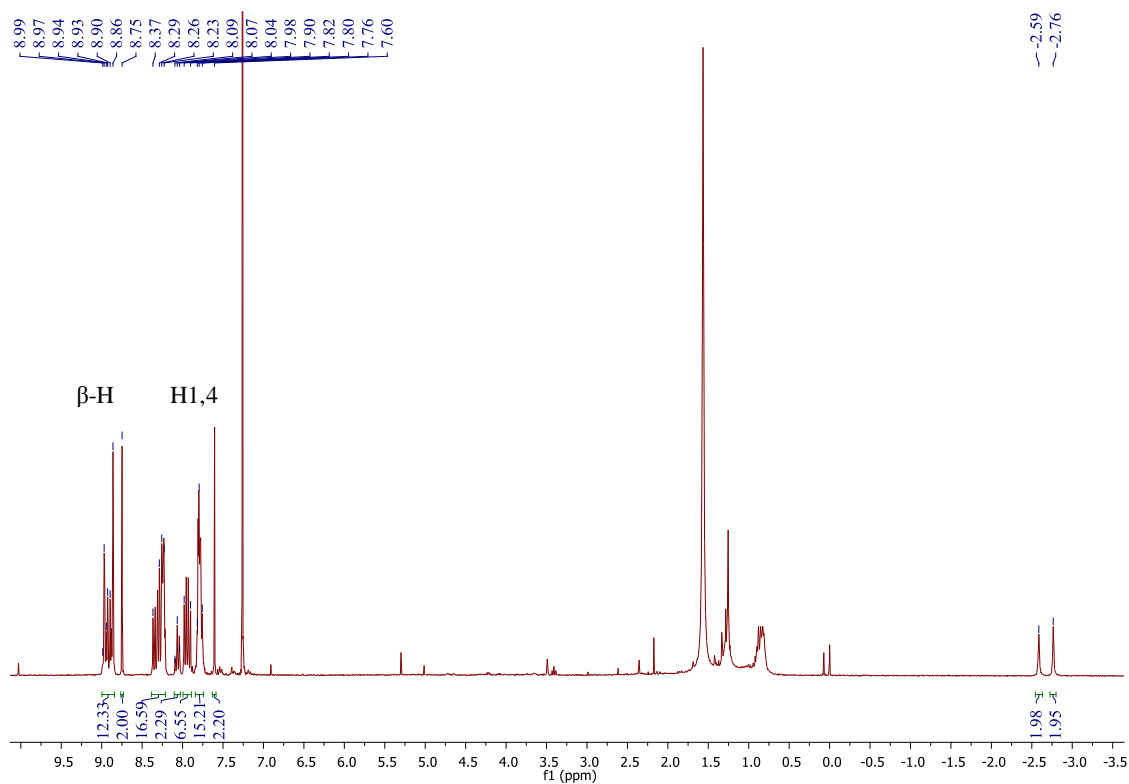


Figura P2.58. Espectro de RMN de ^1H do composto **28a**.

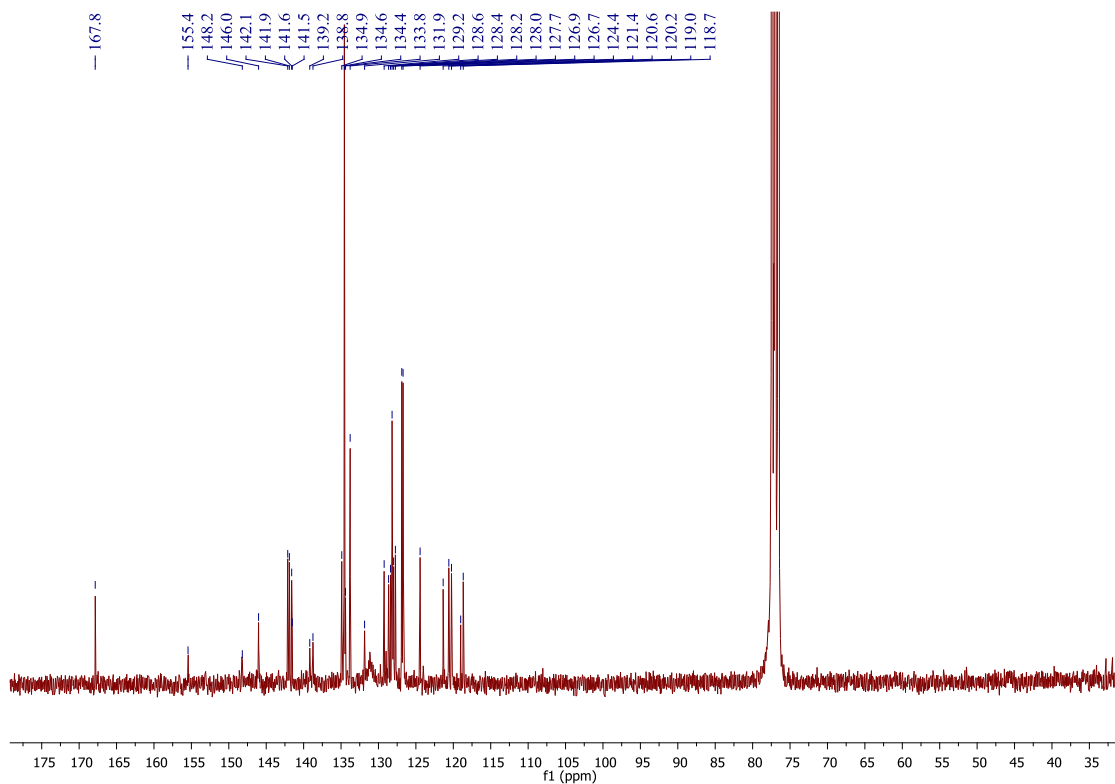
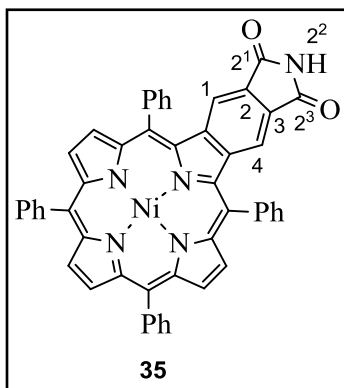


Figura P2.59. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **28a**.

Síntese da ftalimida **35**

Uma solução de composto **14** (20,0 mg, 24.7 μmol) em anidrido acético (7,5 mL) foi refluxada, sob agitação, durante 1 hora. Após este tempo verificou-se por TLC que o ácido ftálico **14** se havia totalmente convertido no respetivo anidrido ftálico. Evaporou-se, a pressão reduzida, o anidrido acético. De notar que, para facilitar a remoção do anidrido acético, foi adicionado tolueno (volumes de 15 mL) até que a mistura reacional estivesse completamente

seca. Adicionou-se formamida (7,5 mL) e refluxou-se a solução durante 1 hora. Ao fim deste tempo arrefeceu-se a mistura reacional até à temperatura ambiente. A mistura reacional foi lavada com uma solução aquosa saturada de ácido cítrico, extraída com CH_2Cl_2 e seca em Na_2SO_4 anidro. O solvente foi evaporado até à secura e a mistura reacional foi cromatografada numa coluna de sílica gel, usando CH_2Cl_2 como eluente. A primeira fração recolhida foi identificada como sendo o produto **35**, que foi obtido com um rendimento quantitativo (19,2 mg).

35: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 7,46 (s, 2H, H1,4); 7,59 (s, 1H, H2²); 7,64-7,71 (m, 6H, Ph-H); 7,76-7,8 (m, 4H, Ph-H); 7,86-7,99 (m, 10H, Ph-H); 8,68 (s, 2H, β -H); 8,69 (d, 2H, β -H, $J = 5,0$ Hz); 8,75 (d, 2H, β -H, $J = 5,0$ Hz); **HRMS (ESI):** $m/z = 789,1663$ (calcd. $[\text{M}]^+$ 789,1669); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 443 (5,10); 550 (4,02); 586 (3,94).

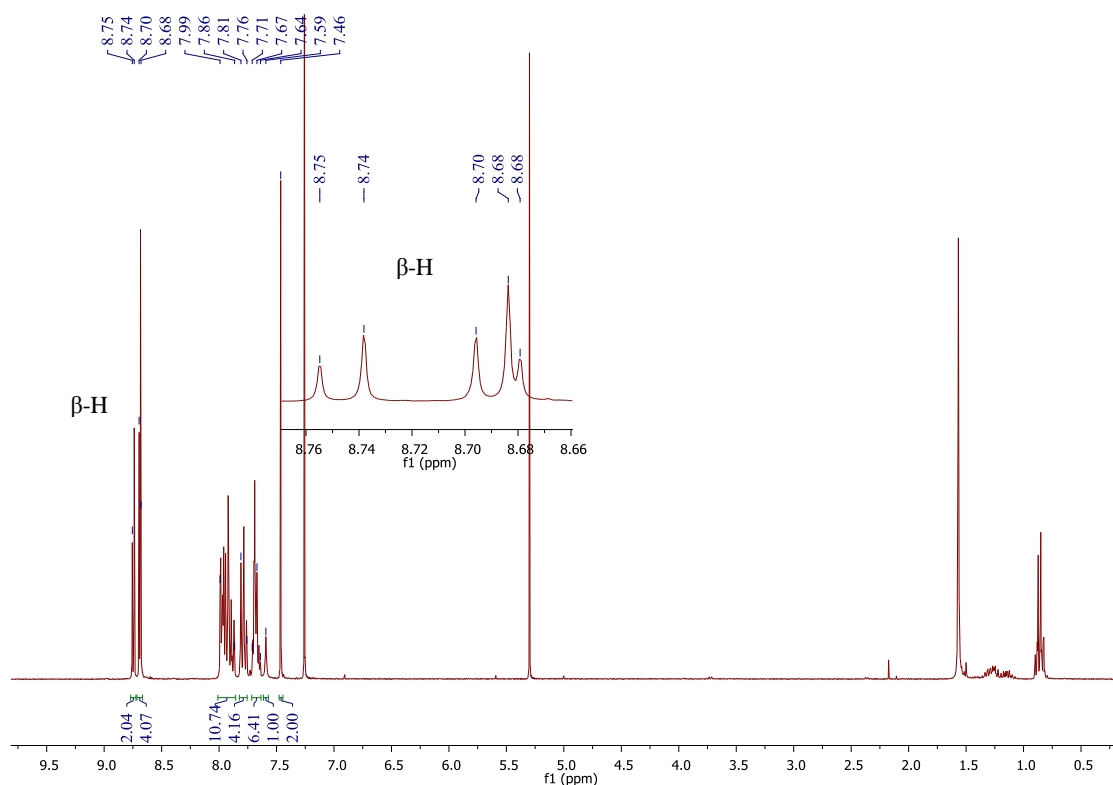
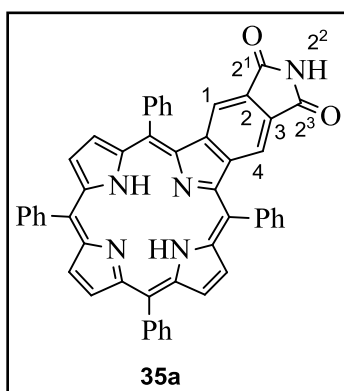


Figura P2.60. Espectro de RMN de ^1H do composto **35**.

Síntese da ftalimida **36a**



Uma solução de composto **35** (10,0 mg) em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{SO}_4$ (9:1) (1 mL) foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO_3 e extraída com CH_2Cl_2 . O solvente foi evaporado até à secura e o produto **35a** foi obtido com um rendimento de 97% (9,0 mg).

35a: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ -2,65 (s, 2H, NH internos); 7,45 (s, 2H, H1,4); 7,55 (s, 1H, H2²); 7,74-7,81 (m, 6H, Ph-H); 7,86-7,91 (m, 4H, Ph-H); 7,98-8,03 (m, 2H, Ph-H); 8,20-8,24 (m, 2H, Ph-H); 8,72 (s, 2H, β -H); 8,89 e 8,92 (sistema AB, 4H, J = 5.1 Hz); **HRMS (ESI)**: m/z = 734,2548 (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+$ 734,2551); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 440 (5,32); 526 (4,25); 561 (3,68); 603 (3,78); 662 (3,20).

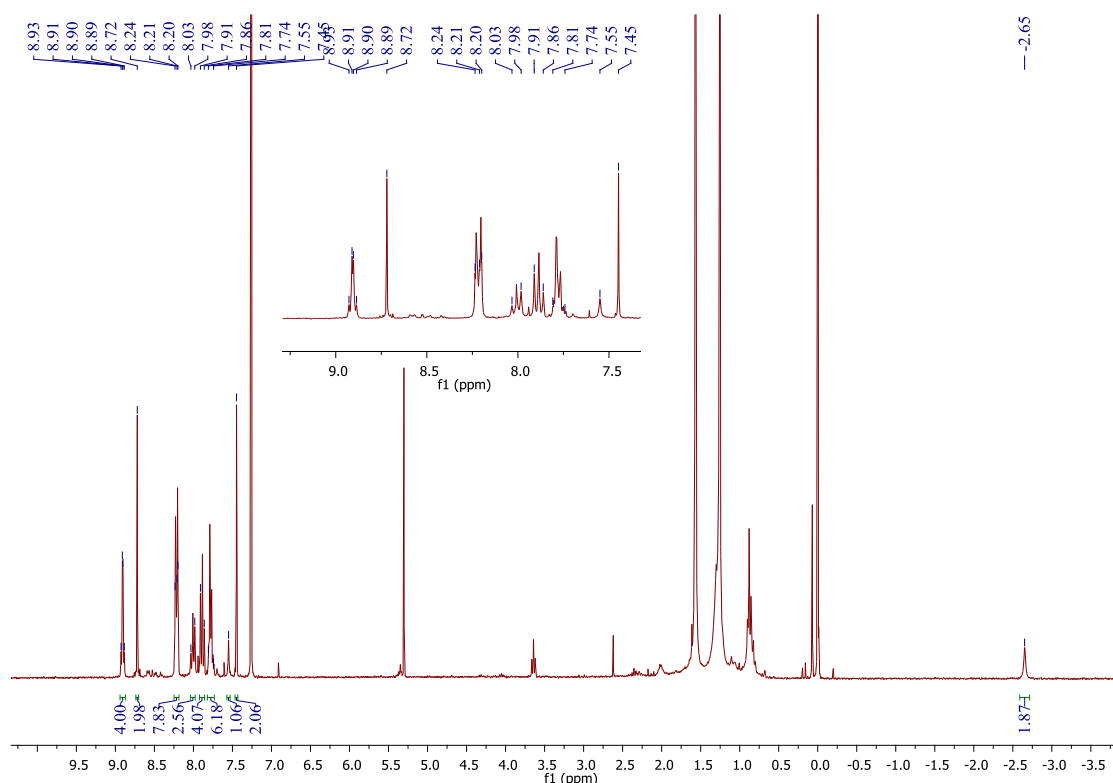
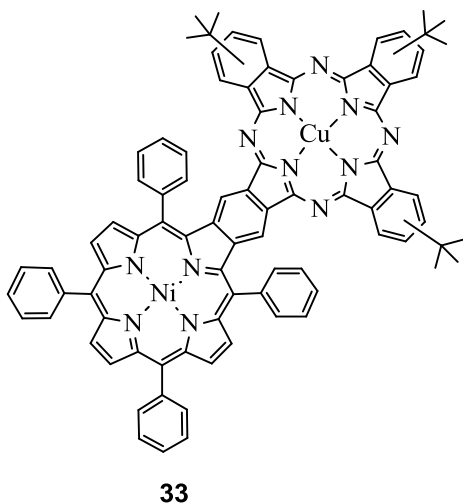


Figura P2.61. Espectro de ^1H NMR do composto **35a**.

Síntese da díade **33**



Uma mistura de ftalimida **35** (20.0 mg, 25.3 μmol), 4-(*tert*-butil)ftalimida (30.9 mg, 152.1 μmol), CuCl_2 (6 mg, 65.2 μmol), *p*-TsOH (3.4 mg, 18.3 μmol) e HMDS (146 μL , 0.704 mmol) foi agitada a 100 $^\circ\text{C}$, num tubo selado, durante 1h. Após este tempo a mistura foi arrefecida e foi adicionada DMF (13 μL). O tubo foi novamente selado e a mistura foi aquecida a 150 $^\circ\text{C}$ durante 10h. Ao fim deste tempo, após arrefecimento até à temperatura ambiente, a mistura reacional foi

dissolvida em MeOH, precipitada em H_2O e filtrada. O resíduo sólido foi dissolvido em CH_2Cl_2 e cromatografado em coluna de sílica usando CH_2Cl_2 como eluente. Foi retirada uma primeira fração que foi identificada como sendo a díade **33** (3,6 mg, 10%), uma segunda fração que foi identificada como sendo a ftalocianina simétrica **36** (28,9 mg, 19

%) e uma terceira fração que foi identificada como sendo a porfirina **35** (11,1 mg, 55% recuperada).

HRMS (ESI): $m/z = 1387,4046$ (calcd. $[M]^{+}$ 1387,4039); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 341 (4,57); 407 (4,66); 470 (4,29); 676 (4,31); 706 (4,56); 741 (4,93).

2.5. Referências

- [1] a) Filatov, M. A.; Cheprakov, A. V.; Beletskaya, I. P. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 3468–3475. b) Ito, S.; Murashima, T.; Uno, H.; Ono, N. *Chem. Commun.* **1998**, 1661–1662. c) Filatov, M. A.; Lebedev, A. Y.; Vinogradov, S. A.; Cheprakov, A. V. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 4175–4185. d) Finikova, O. S.; Cheprakov, A. V.; Beletskaya, I. P.; Carroll, P. J.; Vinogradov, S. A. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 522–535. e) Finikova, O. S.; Cheprakov, A. V.; Carroll, P. J.; Vinogradov, S. A. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 7517–7520. f) Vicente, M. G. H.; Tome, A. C.; Walter, A.; Cavaleiro, J. A. S. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 3639–3642. g) Vicente, M. G. H.; Jaquinod, L.; Khoury, R. G.; Madrona, A. Y.; Smith, K. M. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 8763–8766. h) Gottumukkala, V.; Ongayi, O.; Baker, D. G.; Lomax, L. G.; Vicente, M. G. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 14, 1871–1879. i) Ongayi, O.; Gottumukkala, V.; Fronczek, F. R.; Vicente, M. G. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 1665–1668. j) Jiao, L. J.; Hao, E. H.; Fronczek, F. R.; Vicente, M. G. H.; Smith, K. M. *Chem. Commun.* **2006**, 3900–3902. k) Morgan, A. R.; Pangka, V. S.; Dolphin, D. J. *Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 1047–1048. l) Vicente, M. G. H.; Jaquinod, L.; Khoury, R. G.; Madrona, A. Y.; Smith, K. M. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 8763–8766. m) Lee, S. H.; Smith, K. M. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 2009–2013.

- [2] Treibs, A. *Angew. Chem.* **1936**, 49, 682-686.
- [3] Callot, H.J.; Ocampo, R.; Albrecht, P. *Energy Fuels*, **1990**, 4, 635–639.
- [4] Lash, T.D.; Li, W.; Quizon-Colquitt, D.M. *Tetrahedron* **2007**, 63, 12324–12342 e respectivas referências.
- [5] Muniyappan, R. *J. Chem. Educ.* **1955**, 32, 277-279.
- [6] Howe, W.W. *Anal. Chem.* **1961**, 33, 255–260.
- [7] Baker, E.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 2311–2315.
- [8] Baker, E.W.; Yen, T.F.; Dickie, J.P.; Rhodes, R.E.; Clark, L.F. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 3631–3639.
- [9] Clezy, P.S.; Fookes, C.J.R.; Mirza, A.H. *Aust. J. Chem* **1977**, 30, 1337-1347.
- [10] Clezy, P.S.; Mirza, A.H. *Aust. J. Chem.* **1982**, 35, 197-209.
- [11] Baker, E. W.; Palmer, S. E. *The Porphyrins* **1978**, Eds. Dolphin, D.; Academic Press, New York,USA.
- [12] Callott, H.J.; Johnson, A.W.; Sweeney, A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1973**, 1424-1427.
- [13] DiNello, R.K.; Dolphin, D. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 5196-5204.
- [14] Pangka, V.S.; Morgan, A.R.; Dolphin, D. *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 1094-1100.
- [15] Cavaleiro, J.A.S.; Jackson, A.H.; Neves, M.G.P.M.S.; Rao, K.R.N. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 776-777.
- [16] Morgan, A.R.; Pangka, V.S.; Dolphin, D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1984**, 1047-1048.
- [17] Yon-Hin, P.; Wijesekera, T.P.; Dolphin, D. *Tetrahedron Lett.*, **1989**, 6135-6138.

- [18] Lash, T.D. *Energy Fuel* **1993**, 7, 166-171 e respectivas referências.
- [19] Kaur, S.; Chicarelli, M.I.; Maxwell, J.R. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 1347-1348.
- [20] Callot, H.J.; Ocampo, R.; Albrecht, P. *Energy Fuel* **1990**, 4, 635-639.
- [21] Bidigare, R.R.; Kennicutt, M.C.; Ondrusek, M.E. *Energy Fuel* **1990**, 4, 653-657.
- [22] Kozono, M.; Nomoto, S.; Shimoyama, A. *Chem. Lett.* **2002**, 31, 470-471.
- [23] Nomoto, S.; Satou, M.; Yoshida, T.; Mita, H.; Kumagai, G.; Nomoto, K.; Kigoshi, H.; Kashiya, Y. *Chem. Lett.* **2008**, 37, 490-491.
- [24] Grigg, R.; Johnson, A. W.; Sweeney, A. *J. Chem Soc., Chem. Commun.* **1968**, 697-697.
- [25] Bonnett, R.; McManus, K.A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 1129-1130.
- [26] Bonnett, R.; McManus, K.A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* , **1996**, 2461-2466.
- [27] Ito, S.; Murashima, T.; Ono, N. *Chem. Commun.*, **1998**, 1661-1662 e respectivas referências.
- [28] Lash, T. D. *The Porphyrin Handbook* **2000**, eds. Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R., Academic Press, New York, USA.
- [29] Ito, S.; Murashima, T.; Ono, N. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1997**, 3161-3165.
- [30] Shen, Z.; Uno, H.; Shimizu, Y., Ono, N. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2 , 3442–3447.
- [31] Yamada, H.; Kushibe, K.; Okujima, T.; Uno, H.; Ono, N. *Chem. Commun.* **2006**, 383–385.
- [32] Ito, S.; Uno, H.; T. Murashima; Ono, N. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 45–47.
- [33] Shimizu, Y.; Shen, Z.; Okujima, T.; Uno, H.; Ono, N. *Chem. Commun.* **2004**, 374–375.
- [34] Finikova, O.; Cheprakov, A.; Beletskaya, I.; Vinogradov, S. *Chem. Commun.* **2001**, 261–262.

- [35] Finikova, O.; Cheprakov, A.; Beletskaya, I.; Carroll, P.; Vinogradov, S. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 522-535.
- [36] Finikova, O.; Cheprakov, A.; Vinogradov, S. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 9562-9572.
- [37] Vicente, M. G. H.; Tomé, A. C.; Walter, A.; Cavaleiro, J. A. S. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 3639.
- [38] Lee, S. H.; Smith, K. M. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 2009–2013.
- [39] Jiao, L.; Hao, E.; Fronczek, F.R.; Vicente, M.G.H.; Smith, K.M. *Chem. Commun.* **2006**, 3900–3902.
- [40] Silva, A.M.G.; de Oliveira, K.T.; Faustino, M.A.F.; Neves, M.G.P.M.S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Brandão, P.; Felix, V. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 704–712.
- [41] Jaquinod, L.; Gros, C.; Olmstead, M. M., Antolovich, M.; Smith, K. M. *Chem. Commun.* **1996**, 1475- 1476.
- [42] Silva, A. M. G.; Faustino, M. A. F.; Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 2752.
- [43] Knapp, S.; Vasudevan, J.; Emge, T. J.; Arison, B. H.; Potenza, J. A.; Schugar, H. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1998**, 37, 2368.
- [44] Vicente, M. G. H.; Jaquinod, L.; Khoury, R. G.; Madrona, A. Y.; Smith, K. M. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 8763.
- [45] Liu, W.; Fronczek, F. R.; Vicente, M. G. H.; Smith, K. M. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 7321.
- [46] Sharma, U.; Kumar, P.; Kumar, N.; Singh, B. *Mini Rev. Med. Chem.* **2010**, 10, 678-704.
- [47] Le, Z.-G.; Chen, Z.-C.; Hu, Y.; Zheng, Q.-G. *Synthesis*, **2004**, 208-212.

- [48] Sen, S. E.; Roach, S. L. *Synthesis*, **1995**, 756-758.
- [49] Li, J. J. *Chem. Crystallogr.*, **2010**, 40, 428–431.
- [50] >100 patentes na busca em ISIWEB of KNOWLEDGE
- [51] Galanin, N. E.; Kudrik, E. V.; Shaposhnikov, G. P. *Russ. J. Org. Chem.* **2001**, 37, 687-688.
- [52] Ozawa, H.; Kawao, M.; Nagata, T.; Uno, S.; Nakazato, K. *Chem. Asian J.* **2010**, 5, 2393–2399.
- [53] Gil-Ramírez, G.; Karlen, S. D.; Shundo, A.; Porfyrakis, K.; Ito, Y.; Briggs, G. A. D.; Morton, J. J. L.; Anderson, H. L. *Org. Lett.* **2010**, 12, 3544-3547.
- [54] Wohrle, D.; Eskes, M.; Shigehara, K.; Yamada, A. *Synthesis* **1993**, 194-197.
- [55] Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Vicente, M. G. H.; Cavaleiro, J. A. S.; Neumann, M.; Brauer, H.-D.; Jori, G. *Photochem. Photobiol.* **1997**, 66, 405-412.
- [56] van der Spoel, D.; Lindahl, E.; Hess, B.; van Buuren, A. R.; Apol, E.; Meulenhoff, P. J.; Tieleman, D. P.; Sijbers, A. L. T. M.; Feenstra, K. A.; van Drunen, R.; Berendsen, H. J. C. *Gromacs User Manual version 4.5.4*, www.gromacs.org, **2010**.
- [57] Wang, J. M.; Wang, W.; Kollman, P. A.; Case, D. A. *J. Mol. Graph. & Modell.* **2006**, 25, 247-260.
- [58] Wang, J. M.; Wolf, R. M.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A.; Case, D. A. *J. Comput. Chem.* **2004**, 25, 1157-1174.
- [59] (a) Bayly, C. I.; Cieplak, P.; Cornell, W. D.; Kollman, P. A. *J. Phys. Chem.* **1993**, 97, 10269-10280 (b) Cornell, W. D.; Cieplak, P.; Bayly, C. I.; Kollman, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 9620-9631.
- [60] Frisch, M. J. *et al.* Revision B.04 ed., Pittsburgh PA, USA, **2003**.
- [61] Caldwell, J. W.; Kollman, P. A. *J. Phys. Chem.* **1995**, 99, 6208-6219.

- [62] Mamada, M.; Perez-Bolívar, C.; Anzenbacher Jr.; P. *Org. Lett.* **2011**, 13, 4882–4885.
- [63] Soares, A. R. M.; Martínez-Díaz, M. V.; Bruckner, A.; Pereira, A. M. V. M.; Tomé, J. P. C.; Alonso, C. M. A.; Faustino, M. A. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Torres, T.; Guldi, D. M. *Org. Lett.* **2007**, 9, 1557-1560.
- [64] Pereira, A. M. V. M.; Soares, A. R. M.; Hausmann, Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Guldi, D. M.; Torres, T. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, 13, 11858–11863.
- [65] Luguya, R.; Jaquinod, L.; Fronczek, F. R.; Vicente, M. G. H. ; Smith, K. M. *Tetrahedron* **2004**, 60, 2757-2763.
- [66] Uchida, H.; Reddy, P. Y.; Nakamura, S.; Toru, T. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 8736-8738.
- [67] Wan, Y.; Alterman, M.; Larhed, M.; Hallberg, A. *J. Comb. Chem.* **2003**, 5, 82-84.
- [68] Goll, J. G.; Moore, K. T.; Ghosh, A.; Therien, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 8344- 8354.
- [69] Takeuchi, T.; Gray, H. B.; Goddard, W. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 9730-9732.
- [70] Shelnutt, J. A.; Song, X.-Z.; Ma, J.-G.; Jia, S.-L; Jentzena W.; Medfortha, C. J. *Chem. Soc. Rev.* **1998**, 27, 31-42.
- [71] Parusel, A. B. J.; Wondimagegn, T.; Ghosh, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 6371-6374.

Capítulo III

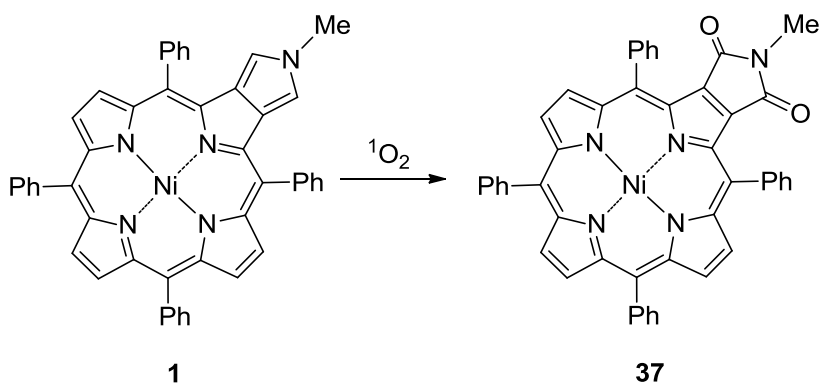
1,3-Dioxopirroloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

3. 1,3-Dioxopirrolporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

3.1. Síntese e Reatividade de 1,3-Dioxopirrolporfirinas

3.1.1. Preâmbulo

Neste capítulo será descrito o trabalho realizado para preparar, de uma forma eficiente, a 1,3-dioxopirrolporfirina (1,3-DPP) **37** a partir da *N*-metilpirrolo[3,4-*b*]porfirina **1** (esquema 3.1.).

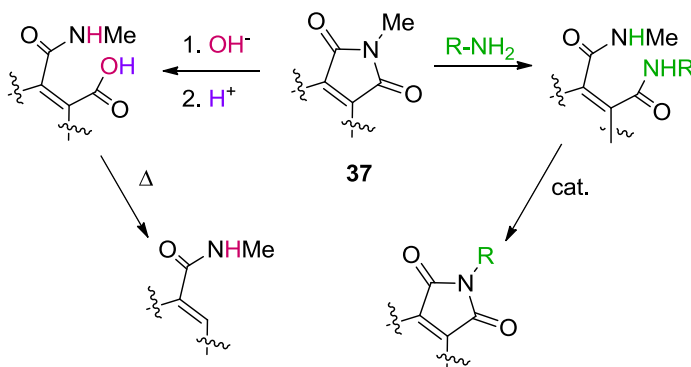


Esquema 3.1.

Este novo composto apresenta na sua estrutura um anel imida fundido em posição β -pirrólica da 5,10,15,20-tetrafenilporfirina (**TPP**). A rota de síntese deste derivado pressupõe a utilização de oxigénio singlete ($^1\text{O}_2$), pelo que se segue uma revisão da literatura contemplando a utilização desta ferramenta de oxidação em síntese orgânica. De salientar ainda a origem sintética da 1,3-DPP; este derivado é sintetizado a partir de uma pirrolo[3,4-*b*]porfirina. Dada a inexistência na literatura de qualquer trabalho contemplando estudos de oxidação destes derivados porfirínicos, irá também ser apresentada uma revisão da literatura de reações de oxidação de isoindóis. Esta opção é fundamentada pelo facto de pirrolo[3,4-*b*]porfirinas e isoindóis apresentarem algumas semelhanças estruturais, nomeadamente o facto de ambos serem constituídos por um anel de pirrol fundido com uma estrutura aromática.

1,3-Dioxopirroloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

Serão também descritas algumas transformações usando a 1,3-DPP **37** como plataforma para a obtenção de novos derivados, nomeadamente de novas amidas e di-amidas, bem como derivados funcionalizados com grupos amida e ácido carboxílico em posições adjacentes (esquema 3.2.).



Esquema 3.2.

Dada a semelhança estrutural destes compostos com ftalimidas, seria oportuna também uma revisão sumária sobre a reatividade deste tipo de compostos. Contudo, este tema foi alvo de uma breve explanação no segundo capítulo deste documento, pelo que se torna desnecessária no contexto presente.

Após a exposição de todas as considerações bibliográficas relevantes, seguir-se-á a descrição e discussão experimental do trabalho contemplando a síntese e reatividade da porfirina **37**, dando-se também especial destaque à caracterização estrutural e fotofísica que acompanhou todo o desenvolvimento sintético.

Todo o trabalho experimental sintético antecederá a avaliação biológica dos compostos obtidos mais promissores, que contemplará a estimativa, *in vitro*, da respetiva atividade fotodinâmica em células tumorais. Este tópico será abordado em mais pormenor após a secção de síntese e reatividade de 1,3-DPP.

3.1.2. Oxigénio singlete em síntese orgânica

A molécula de oxigénio – Noções essenciais

Apesar da sua aparente simplicidade, a molécula de oxigénio O_2 apresenta um conjunto de propriedades pouco usuais, nomeadamente no que diz respeito ao seu comportamento magnético e espectroscópico, processos de transferência de energia e reatividade química. A teoria das orbitais moleculares ajuda a entender facilmente os processos eletrónicos responsáveis pela peculiaridade das características da molécula de O_2 . Considerando a distribuição dos 12 eletrões de valência da molécula de O_2 pelas 8 orbitais moleculares (**OM**) (Fig. 3.1.), das quais 4 são orbitais ligantes (**OL**) e 4 são orbitais não ligantes (**ONL**), facilmente se entende o paramagnetismo desta molécula uma vez que dois dos seus eletrões se encontram não emparelhados numa **ONL**.¹

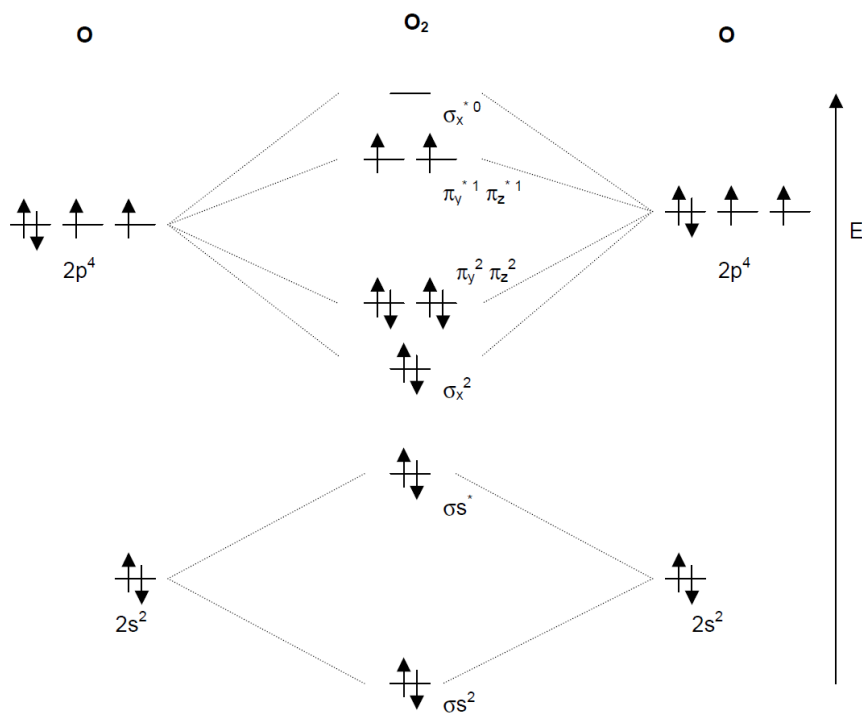


Figura 3.1. Representação das orbitais do oxigénio molecular.

Esta configuração eletrônica particular permite a existência de três estados de energia possíveis; o estado fundamental tripleto Σ e dois estados excitados singletos Σ e Δ .² Os estados tripleto e singlete diferem apenas no spin e na ocupação das ONL (Figura 3.2.). Apesar de ser possível o O_2 passar do estado fundamental tripleto $^3\Sigma_g^-$ para os dois estados excitados singlete, o estado $^1\Delta_g$ (23 kcal/mol) é o predominante, uma vez que o tempo de vida de $^1\Sigma_g^+$ (37 kcal/mol) é demasiado curto, ocorrendo sempre relaxação para $^1\Delta_g$. Dado o posicionamento emparelhado dos elétrons no caso de $^1\Delta_g$, este estado está relacionado com reações envolvendo dois elétrons. No caso do estado $^1\Sigma_g^+$ seria de esperar um elevado potencial em reações radiculares envolvendo um elétron, contudo o decaimento para o estado $^1\Delta_g$ ocorre antes que qualquer reação química possa tomar lugar.¹

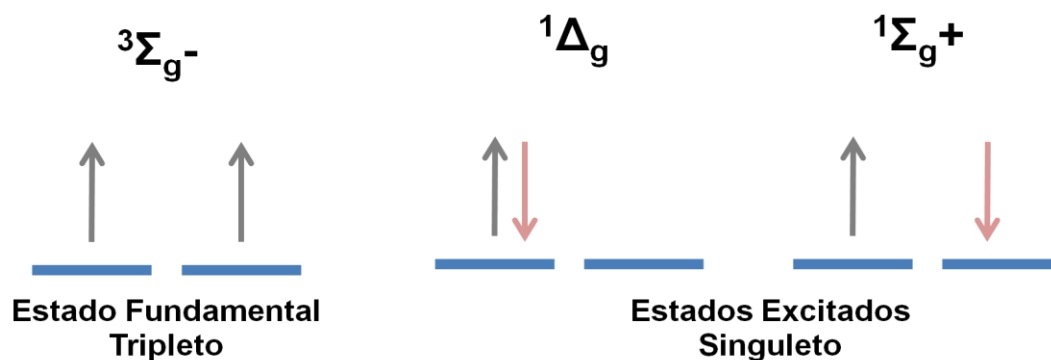


Figura 3.2. Esquema representativo do spin do estado fundamental tripleto e dos estados excitados singlete.

Geração de oxigênio singlete

Existem vários métodos que permitem a obtenção de oxigênio singlete (1O_2), podendo-se dividir os processos utilizados em metodologias físicas e químicas. Dar-se-á exclusivo relevo neste tópico ao método físico denominado de fotossensibilização ou processo fotodinâmico por ser umas das técnicas mais eficientes e mais facilmente praticável em termos laboratoriais, e também por ser a técnica utilizada na parte experimental deste trabalho.

O processo fotodinâmico pode ser explicado recorrendo a um diagrama de Jablonski modificado (Fig. 3.3.). Os diagramas de Jablonski são diagramas de estado onde os estados eletrônicos moleculares, representados por linhas horizontais, indicam energias relativas e estão agrupadas de acordo com a multiplicidade em colunas dispostas horizontalmente. Os processos de excitação e relaxação são indicados por setas. Um diagrama de Jablonski relativo ao processo fotodinâmico ajuda a ter noção global dos processos de transferência de energia a ocorrer. Se o fotossensibilizador (PS) absorver ao λ da radiação incidente ocorrerá excitação do PS de um estado fundamental singlete (S_0) para um estado excitado singlete (S_1) cujo tempo de vida é da ordem dos nanossegundos. Em princípio, o elétron poderia passar a outros estados excitados singlete, com tempos de vida na ordem dos picossegundos, no entanto, processos de conversão interna conduzem o PS ao estado excitado de singlete menos energético (S_1).³

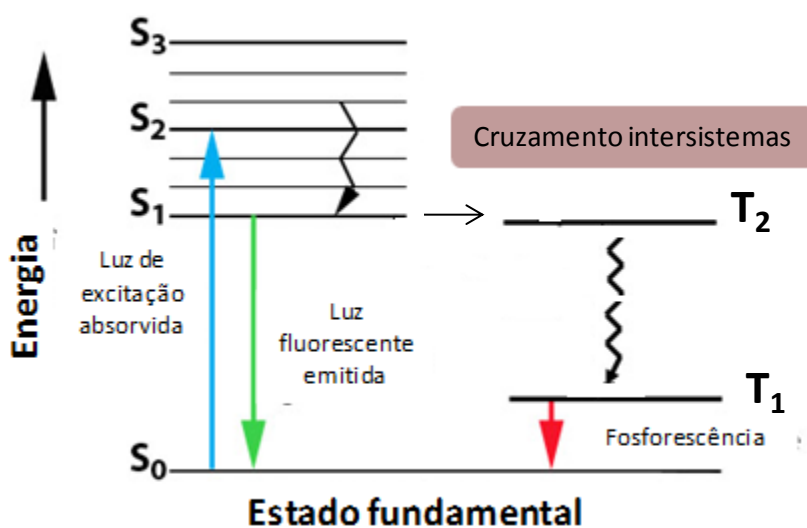


Figura 3.3. Diagrama de Jablonski modificado (*adaptado de <http://web.uvic.ca/ail/techniques/epi-fluorescence.html>*).

Após então alguns nanossegundos a espécie S_1 volta ao estado fundamental. Existem três vias distintas de retorno ao estado fundamental, S_0 :

- a) Decaimento não radiativo, onde a energia é libertada sob a forma de calor;
- b) Decaimento radiativo por emissão de luz (fluorescência) de λ superior à luz absorvida;
- c) Cruzamento intersistemas (ISC), ou seja, conversão num estado excitado tripleto que é conseguido por inversão de spin. Depois, o decaimento para o estado S_0 pode ocorrer por via radiativa, com emissão de fosforescência e implicando uma inversão de spin, ou por via não radiativa podendo causar modificações químicas em moléculas ou mesmo substratos biológicos.³

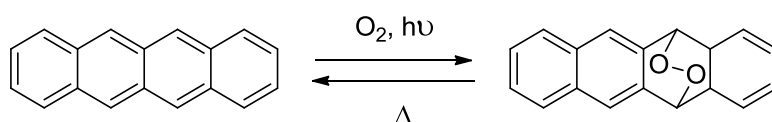
Quando o PS está no estado tripleto podem ocorrer alterações químicas, em moléculas que se encontrem próximas a ele, através de dois mecanismos:

a) *Mecanismo tipo I* – O PS que se encontra no estado excitado tripleto reage diretamente com as moléculas por processos de transferência de eletrões formando espécies radicalares. No caso em que o O_2 é o substrato forma-se $O_2^{\cdot -}$ que se converte em radicais do tipo OH^{\cdot} que podem reagir posteriormente com o oxigénio ou outras moléculas originando um processo em cadeia.

b) *Mecanismo tipo II* – O PS no estado excitado tripleto transfere energia para moléculas no estado fundamental. Para se verificar a regra da conservação de spin e para que haja interação entre o PS e o substrato ambos têm que se encontrar num estado tripleto, sendo necessário que a energia do estado tripleto do substrato seja menor que a do PS. Grande parte dos substratos orgânicos apresenta uma energia de estado tripleto relativamente alta relativamente a PS como as porfirinas, ao contrário do O_2 que no estado fundamental está no estado tripleto (3O_2). A energia proveniente do PS pode ser transferida para o 3O_2 que passa ao estado de singlete (1O_2), espécie altamente reativa que pode intervir em diferentes tipos de reações com variadas moléculas orgânicas.³

Utilização de oxigénio singleto em síntese orgânica

A mais antiga descrição na literatura de uma reação envolvendo $^1\text{O}_2$ data de 1867, num trabalho descrito por Fritzsche. Este autor descreveu a obtenção de um produto a partir do tetraceno, quando este era exposto a luz e oxigénio. O tetraceno podia ser regenerado, por aquecimento do produto obtido.⁴ No entanto, nessa época ainda não era conhecida a identidade da espécie reativa de O_2 e, como consequência, também a estrutura do produto oxidado do tetraceno era desconhecida. Na verdade, apenas nos anos 70 do século passado, foi possível a identificação estrutural do endoperóxido derivado do tetraceno (Esquema 3.3.).⁵



Esquema 3.3.

O entendimento de como a molécula de O_2 poderia participar em reações químicas de oxidação só foi possível devido aos trabalhos pioneiros de alguns investigadores, desenvolvidos a partir de 1928, nomeadamente de Mulliken. Este autor estabeleceu a existência de diferentes níveis eletrónicos na molécula de oxigénio, através da identificação de bandas de absorção da atmosfera.⁶ A espectroscopia atmosférica permitiu a medição das diferenças de energia entre o estado fundamental $^3\Sigma_g^-$ e os dois estados excitados $^1\Sigma_g^+$ e $^1\Delta_g$.⁷ A evolução do conhecimento acerca dos diferentes estados de energia possíveis para a molécula de O_2 permitiu, a Kautsky e colaboradores, demonstrar a existência de espécies intermediárias metastáveis em reações de foto-oxidação.⁸ Durante os anos que se seguiram até aos dias de hoje, a temática do $^1\text{O}_2$ é um foco de investigação de muitos cientistas por todo o Mundo, sendo prova disso, as inúmeras revisões publicadas sobre o assunto.^{1,9-13}

Sendo o $^1\text{O}_2$ uma espécie de oxigénio altamente reativa, foi aumentando, ao longo dos anos, o interesse em utilizá-lo como reagente em síntese orgânica, uma vez que o $^3\text{O}_2$ não reage prontamente com a maioria das moléculas orgânicas, devido a restrições de spin.

Tratando este tópico da utilização de $^1\text{O}_2$ em síntese orgânica, torna-se conveniente explicar, de uma forma mais detalhada, a necessidade de a molécula de O_2 ter de estar num estado excitado $^1\Delta_g$ para que possa ocorrer reação. Na verdade, e como já foi referido, a molécula de O_2 possui dois eletrões não emparelhados. Estes dois eletrões têm o mesmo número quântico de spin, i.e., têm spins paralelos. O O_2 é, termodinamicamente, um agente oxidante forte. Contudo, se o O_2 tentar oxidar uma espécie não radicalar, aceitando dela um par de eletrões, ambos os eletrões terão que possuir o mesmo spin para que possam preencher os espaços livres das orbitais π^* . Um par de eletrões de uma OA ou OM não poderá cumprir este critério, uma vez que possuem spins opostos. Esta restrição de spin tem como consequência, o facto de o O_2 aceitar os eletrões um de cada vez, ajudando a explicar a razão pela qual esta molécula reage lentamente com a maioria das espécies não-radicais. Pelo contrário, poderá reagir excecionalmente rápido com outros radicais por transferência de um único eletrão. Contudo, se for fornecida à molécula uma certa quantidade de energia, ocorre uma reorganização dos eletrões nas orbitais π^* , podendo a molécula passar a estar em dois estado excitados $^1\Sigma_g^+$ e $^1\Delta_g$, onde a restrição de spin deixa de existir, aumentando fortemente o carácter oxidativo da molécula. Todavia, como também já foi elucidado atrás, o estado $^1\Sigma_g^+$ decai rapidamente para $^1\Delta_g$, sendo esta a espécie não-radicalar interveniente nos processos oxidativos.

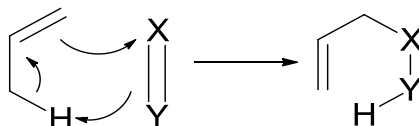
O potencial da molécula de $^1\text{O}_2$ como agente oxidante é bastante elevado, seguindo-se agora uma breve revisão da literatura relativa ao tipo de reações em que esta espécie de oxigénio poderá estar envolvida.

Naturalmente, o tipo de reações em questão, subentende a utilização de sistemas aceitadores contendo duplas ligações. De uma forma geral existem três tipos diferentes de reações onde o $^1\text{O}_2$ poderá estar envolvido:

- a) reação do tipo eno,
- b) reação do tipo cicloadição [4+2],
- c) reação do tipo cicloadição [2+2].^{9,12,13}

Reações do tipo eno – Formação de hidroperóxidos alílicos

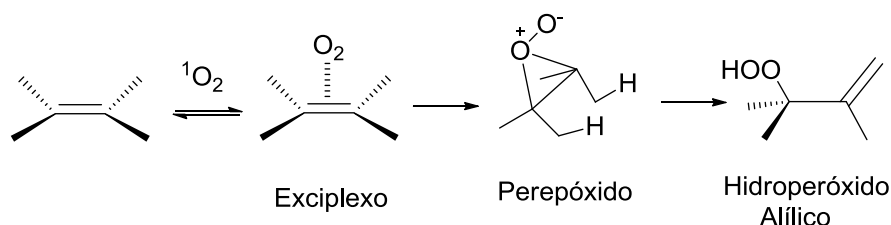
A reação do tipo eno é definida como um processo pericíclico de 6 eletrões, entre um alceno com um hidrogénio alílico (eno) e uma dupla (ou tripla) ligação deficiente em eletrões (enófilo) para formar 2 ligações σ com migração da ligação π (Esquema 3.4.).



Esquema 3.4.

Considerando que o enófilo poderá ser $^1\text{O}_2$, facilmente se consegue entender a formação de hidroperóxidos alílicos, na presença de alcenos possuindo hidrogénios alílicos.

Contudo, dada a especificidade da molécula de $^1\text{O}_2$, que se encontra num estado de energia excitado, existem propostas alternativas para o mecanismo exato da formação de hidroperóxidos, como o que é explicitado no esquema 3.5.¹⁴

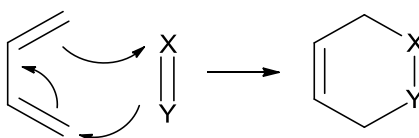


Esquema 3.5.

A estereo- e a regioselectividade deste tipo de reações são influenciadas por diversos fatores, sendo fortemente dependentes das interações conformacionais, estéricas, eletrónicas e ligações de hidrogénio do intermediário perepóxido.¹²

Reações do tipo cicloadição [4+2] - Formação de endoperóxidos

A reação de cicloadição [4+2], comumente designada por Diels-Alder, é definida como um processo pericíclico, de 6 elétrons, entre um alceno ou análogo (dienófilo) e um dieno conjugado (dieno) para formar 2 ligações σ a partir de duas ligações π , com migração da terceira ligação π (Esquema 3.6.). Se se considerar que o dienófilo poderá ser $^1\text{O}_2$, facilmente se poderá justificar a formação de endoperóxidos de 6 lados, na presença de dienos conjugados.

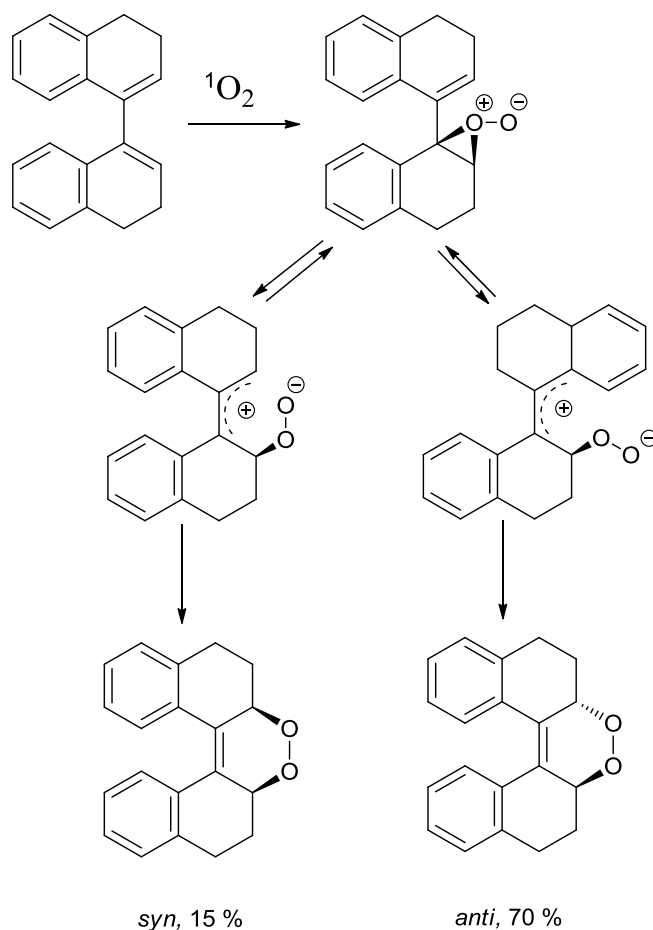


Esquema 3.6.

No entanto, existe uma enorme polémica na aceitação deste mecanismo, como a única ou verdadeira via a estar envolvida na formação de endoperóxidos a partir de $^1\text{O}_2$, apesar de o termo “cicloadição [4+2]”, ser a principal designação usada na literatura para descrever este tipo transformações.^{9,12,13} Em 1977, Dewar e Thiel calcularam que a via reacional contemplando um intermediário perepóxido envolveria menor energia que a via considerando um estado de transição resultante de uma cicloadição concertada.¹⁵ Apesar deste facto, os estudos experimentais que se seguiram davam conta da obtenção preponderante do aducto *syn*, em reações envolvendo dienos e $^1\text{O}_2$. Um dos princípios de ouro da química orgânica assenta no pressuposto que a estereosseletividade de uma reação de Diels-Alder é *syn*, devido à natureza de um mecanismo concertado. Como tal, até meados da década de 90, não foram reportadas evidências experimentais que suportassem inequivocamente a hipótese da existência de um mecanismo envolvendo intermediários perepóxido.^{16,17} Apenas em 1995, surgiu o suporte experimental que consolidou os cálculos de Dewar e Thiel. Delogu e colaboradores, apresentaram um trabalho pioneiro envolvendo a reação de bisdialina com oxigénio na presença de luz e **TPP**, com obtenção predominante do cicloaducto *anti* (Esquema 3.7.).

Uma vez que um mecanismo característico de uma cicloadição concertada era inadequado para justificar o(s) produto(s) formados, os autores propuseram a formação de um intermediário perepóxido, cujo anel poderia abrir formando espécies zwitteriônicas, que poderão originar os produtos *syn* e *anti* (Esquema 3.7.). Apresentando o isômero *anti*, presumivelmente, maior estabilidade termodinâmica, este é o produto maioritariamente formado (Esquema 3.7.).

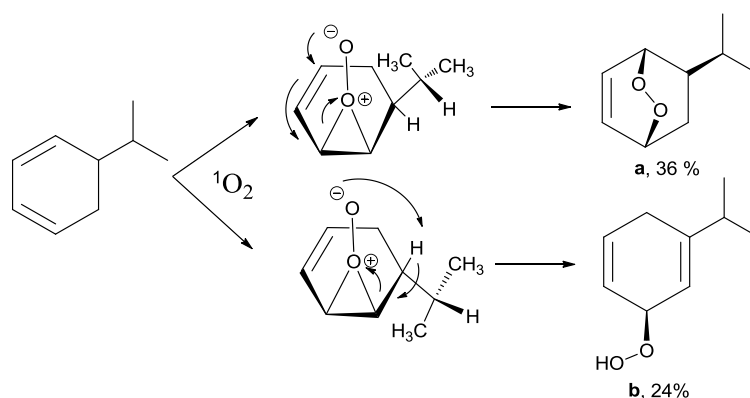
Ainda de referir, que a formação do produto *anti* é unicamente observada quando é utilizado $^1\text{O}_2$; aquando da utilização do anidrido maleico e *N*-fenilmaleimida, como dienófilos, apenas os cicloaductos *syn* são formados.¹⁸



Esquema 3.7.

No ano seguinte, Carpenter e Davis reportaram o que, aparentemente, poderia ser uma cicloadição, de $^1\text{O}_2$ a um dieno cíclico, pelo lado mais impedido da molécula. Uma vez que a abordagem [4+2] estava completamente desajustada aos produtos observados, os autores propuseram dois perepóxidos distintos, como intermediários (Esquema 3.8).

No caso em que há um menor impedimento da função perepóxido, o oxigénio remove um protão do carbono substituído com o grupo isopropilo, conduzindo à formação do produto **b**. No caso em que há um maior impedimento da função perepóxido ocorre rapidamente um rearranjo que conduz à formação do respetivo endoperóxido **a**, uma vez que não existe nenhum hidrogénio que possa ser rapidamente removido para formar um produto do tipo **b**.¹⁹



Esquema 3.8.

Também os trabalhos desenvolvidos por Mehta *et al.*²⁰⁻²² e Adam *et al.*,^{23,24} contribuíram para o entendimento do tipo de mecanismo envolvido em reações de dienos conjugados e $^1\text{O}_2$. Os autores estudaram exaustivamente a influência da conformação e dos grupos substituintes do dieno conjugado, inferindo a relação destes com a estereosseletividade da reação com $^1\text{O}_2$. Verificaram que muitos dienófilos reagiam exclusivamente pelo lado estericamente menos impedido de algumas da moléculas estudadas. No entanto, o $^1\text{O}_2$ apresentava diferentes comportamentos consoante o tipo de substituição do dieno, estando a estereosseletividade das reações dependente da interação de $^1\text{O}_2$ com esses mesmos grupos, nomeadamente com grupos hidroxilo.²⁰⁻²⁴

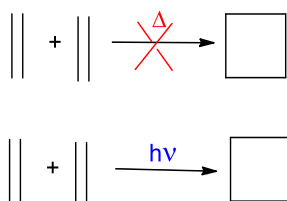
Já no ano 2000, Tonachini e colaboradores apresentaram alguns estudos teóricos que adicionaram mais algumas variáveis à discussão do verdadeiro mecanismo envolvido na formação de endoperóxidos a partir de $^1\text{O}_2$. Com base nos seus cálculos, os autores sugerem que a formação do perepóxido não pode ocorrer diretamente entre o $^1\text{O}_2$ e a dupla ligação, mas sim a partir de um intermediário di-radicalar.²⁵

Contudo os ensaios teóricos foram conduzidos apenas com sistemas simples, podendo não ser representativos da reatividade de moléculas mais complexas.²⁵

Até aos dias de hoje, o mecanismo de obtenção de endoperóxidos a partir de $^1\text{O}_2$ ainda não se encontra totalmente clarificado, facto que não impede a publicação de inúmeros trabalhos mostrando a versatilidade de obtenção de diferentes compostos, nomeadamente endoperóxidos e seus derivados, a partir de $^1\text{O}_2$.²⁶

Cicloadição [2+2] - Formação de dioxetanos

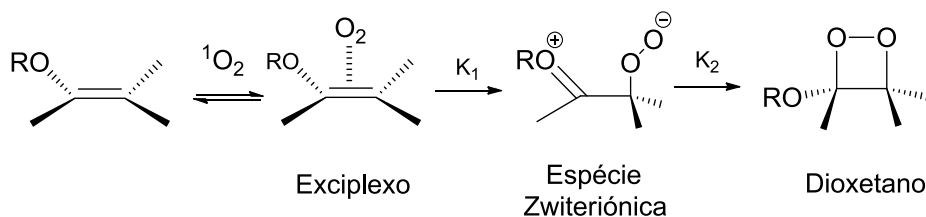
A reação de cicloadição [2+2] é definida como um processo pericíclico, de 4 eletrões, entre dois alcenos (ou análogos) para formar 2 ligações σ , com supressão das ligações π . Aparentemente é um processo em tudo semelhante à cicloadição [4+2], contudo existem impedimentos de ordem orbital, que tornam os mecanismos destas duas cicloadições bastante diferentes. A cicloadição [2+2], salvo raras exceções, não ocorre em condições térmicas, seguindo, normalmente, um mecanismo fotoquímico (Esquema 3.9.).¹²



Esquema 3.9.

Considerando que um alceno pode reagir com $^1\text{O}_2$, num tipo de reação similar a uma cicloadição [2+2], facilmente se consegue entender a formação de dioxetanos na presença destes dois reagentes.

No entanto, também neste caso existem outros mecanismos propostos para este tipo de transformações, como é o caso do explicitado no esquema 3.10.¹²



Esquema 3.10.

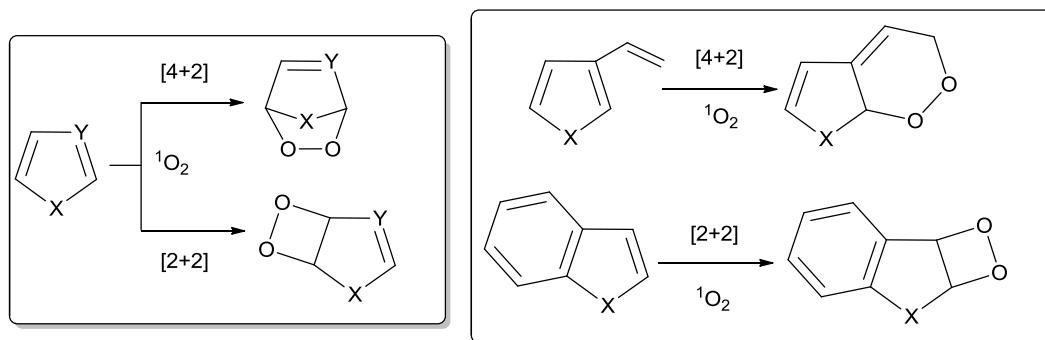
A estereoespecificidade de cicloadições do tipo [2+2] com $^1\text{O}_2$ é variável, existindo casos em que a formação do dioxetano é estereoespecífica e outros em que é classificada como não-estereoespecífica.

De notar, que existem muitos exemplos de competição de reações do tipo eno com cicloadições do tipo [2+2], podendo as condições reacionais ser modeladas de modo a favorecer uma das vias; por exemplo, o aumento da polaridade do solvente está muitas vezes relacionado com uma maior formação de derivados dioxetano.¹²

3.1.3. Reações de $^1\text{O}_2$ com compostos heterocíclicos

Este tópico não pretende ser uma revisão exaustiva de todas as reações possíveis de $^1\text{O}_2$ com heterociclos. Tem apenas o intuito de apresentar alguns exemplos deste tipo de transformações, ressaltando a importância desta metodologia para obtenção de novos produtos contendo anéis pirrólicos. A escolha, em particular, do anel aromático de 5 lados contendo unicamente um átomo de azoto, prende-se com o facto de ser este o tipo de grupo em destaque na parte experimental deste capítulo, refletindo também a relevância deste tipo de sistema anelar na química heterocíclica e biológica.

É de salientar que reações de cicloadição do tipo [4+2] são as mais comuns em heterociclos aromáticos de 5 lados, contudo, dependendo dos substituintes, outros tipos de transformações poderão ocorrer. Numa revisão feita por Iesce e colaboradores, os autores apresentam um esquema resumo bastante elucidativo do tipo de derivados que poderão ser obtidos (Esquema 3.11.).²⁷

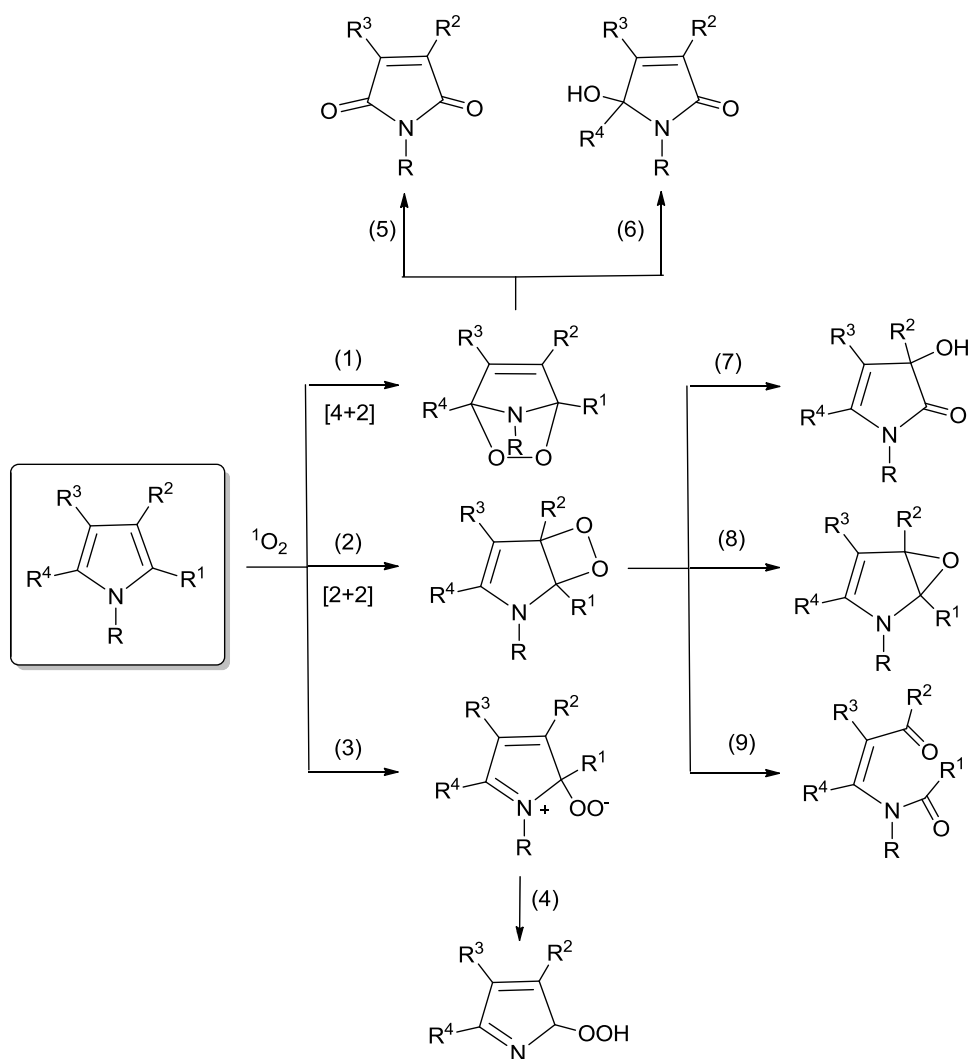


Esquema 3.11.

Pirróis

Os pirróis reagem com $^1\text{O}_2$ originando endoperóxidos altamente instáveis. Contudo, é comum ocorrer competição entre a formação de endoperóxidos, dioxetanos e hidroperóxidos, tendo a substituição do pirrol, diluição e temperatura um efeito preponderante no caminho seguido pela reação (Esquema 3.12.).

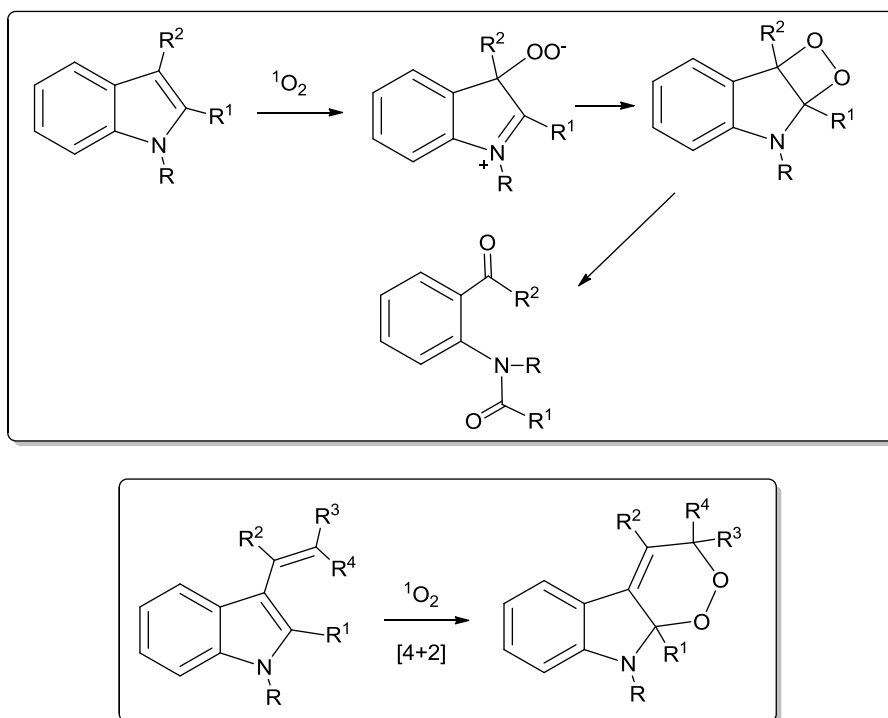
A título de exemplo, é possível enunciar alguns tipos de substituição do pirrol que favorecem a formação de determinados produtos; a ausência de substituição nas posições α do pirrol favorecerá a reação do tipo cicloadição [4+2] (esquema 3.12. (1)), assim como a existência de apenas uma posição α substituída poderá encaminhar o precursor para uma reação do tipo cicloadição [2+2], com obtenção da correspondente hidroxicetona (esquema 3.12. (7)).^{12,27}



Esquema 3.12.

Indóis

Em relação aos indóis, a reatividade é um pouco diferente relativamente ao descrito para os pirróis, em consequência da existência do anel benzénico fundido. Como tal, a transformação que ocorre predominantemente é a reação do tipo ciclo-adição [2+2] (esquema 3.13.). Em casos excepcionais, quando a substituição proporciona a existência de um dieno adicional na molécula, poderá ocorrer a formação do respetivo endoperóxido (esquema 3.13.).^{12,27}

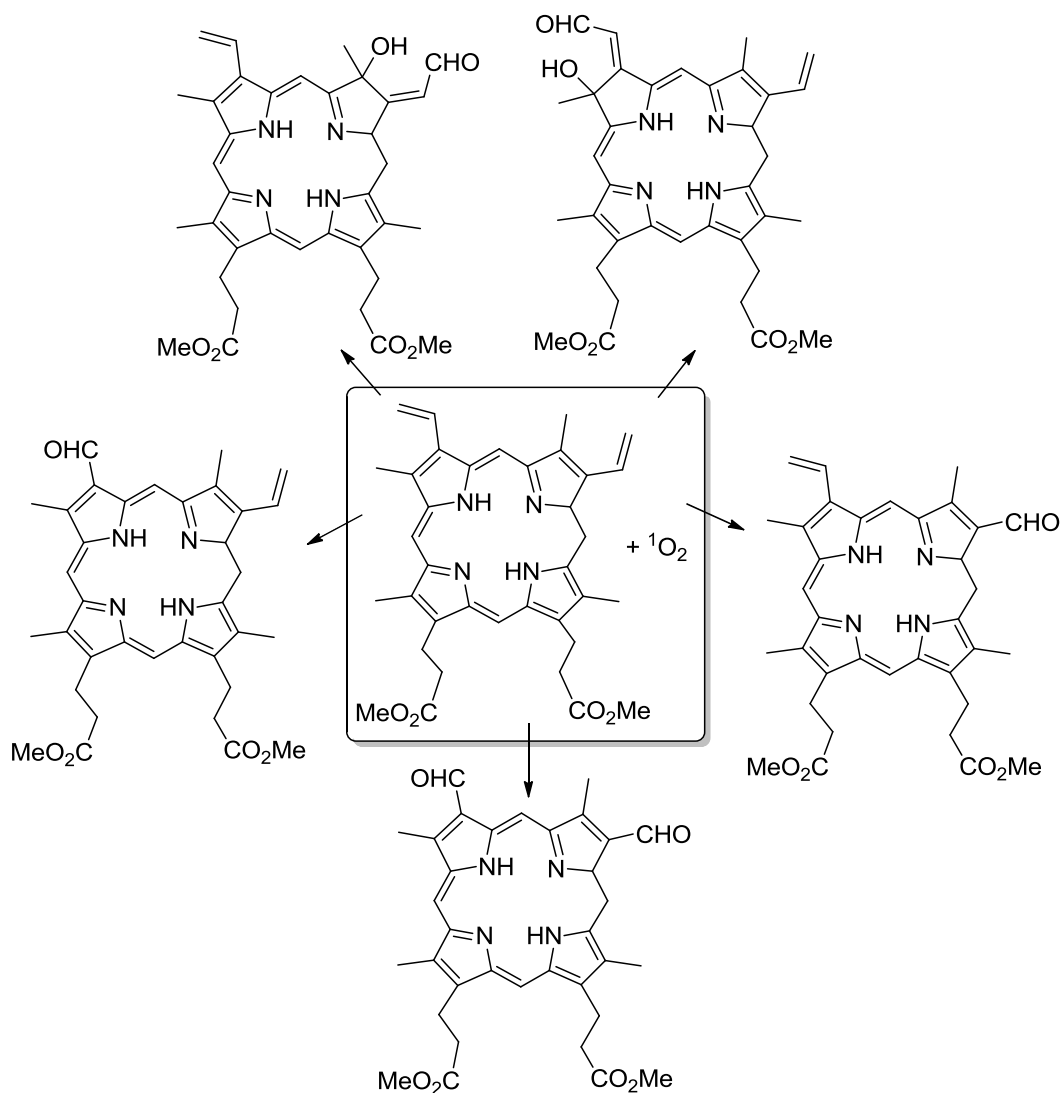


Esquema 3.13.

Porfirinas

Alguns macrociclos pirrólicos, como é o caso das porfirinas, foram também alvo de alguns estudos contemplando a obtenção de novos derivados através da reação com o $^1\text{O}_2$.

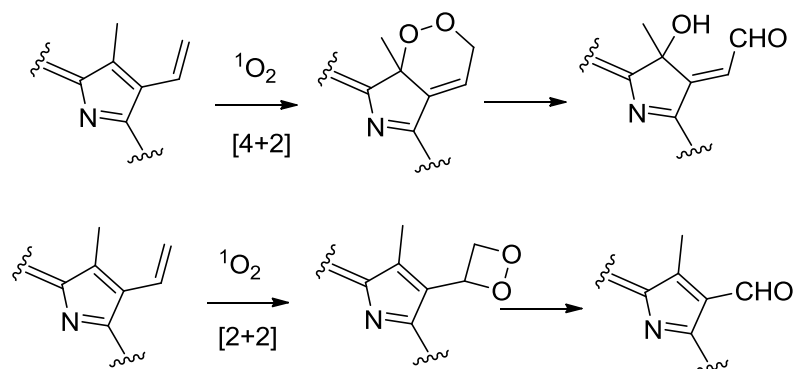
Cox e colaboradores reportaram, durante o início da década de 80 do passado século, alguns trabalhos mostrando a obtenção de produtos derivados da protoporfirina IX por reação desta com o $^1\text{O}_2$. No esquema 3.14. são apresentados os compostos sintetizados, que assumiram particular importância devido à obtenção de produtos oxidados mais estáveis que os seus precursores e com propriedades fotofísicas que lhes permitiam por si só serem usados em aplicações clínicas.²⁸⁻³⁰



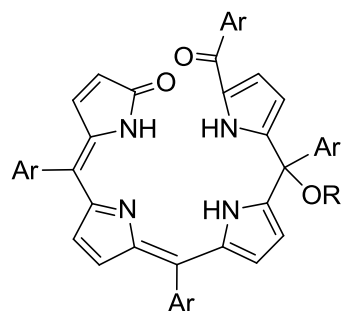
Esquema 3.14.

Os autores sugeriram um mecanismo de reação do tipo cicloadição [4+2] para a obtenção dos hidroxi-aldeídos e um mecanismo de reação do tipo cicloadição [2+2] para a obtenção dos aldeídos (esquema 3.15.).³⁰

No fim da década de 1980 e durante os anos 1990 o grupo do Professor Cavaleiro desenvolveu um trabalho pioneiro, estudando processos oxidativos, via $^1\text{O}_2$, em *meso*-tetrafenilporfirinas não complexadas reportando a obtenção das bilinonas apresentadas na figura 3.4.



Esquema 3.15.



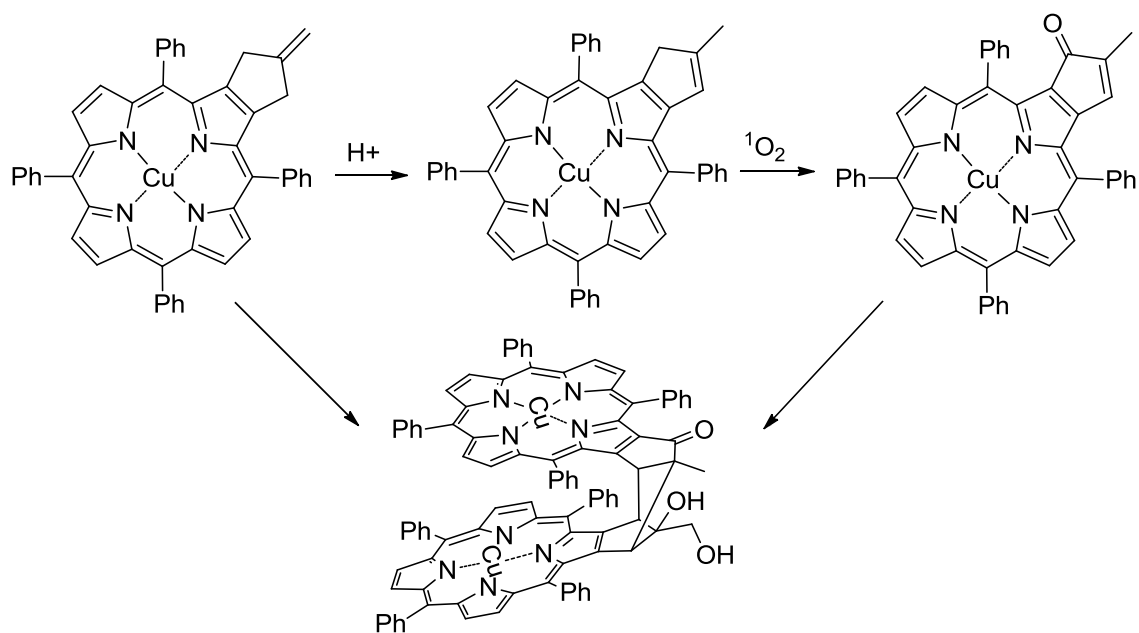
$\text{Ar} = \text{C}_6\text{H}_5, p\text{-C}_6\text{H}_4(\text{OMe})$

$\text{R} = \text{H}, \text{Me}, \text{Et}$

Figura 3.4. Produtos de oxidação obtidos a partir de *meso*-tetraarilporfirinas.

O mecanismo envolvido na formação destes derivados pressupõe a adição de uma molécula de oxigénio, seguida do ataque de H_2O , MeOH ou EtOH às posições meso- α e γ do produto de oxidação primário.^{31,32} O mesmo autor conduziu ainda alguns estudos de complexação de algumas das bilinonas obtidas com zinco (II).³³

Mais recentemente, Smith e colaboradores reportaram também a oxidação de um derivado porfirínico, usando $^1\text{O}_2$ (esquema 3.16).³⁴



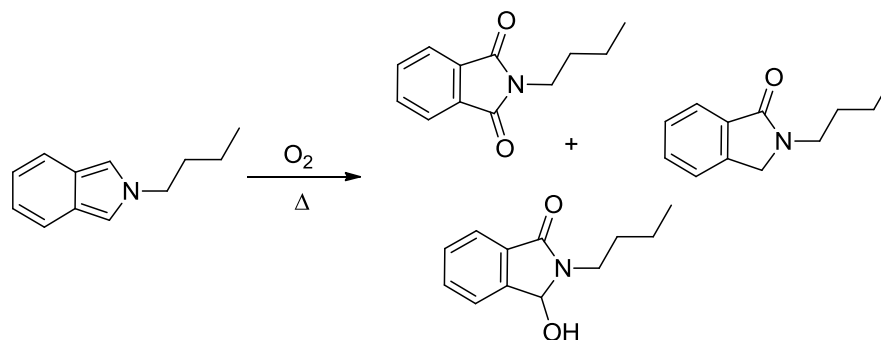
Esquema 3.16.

3.1.4. Oxidação de isoindóis

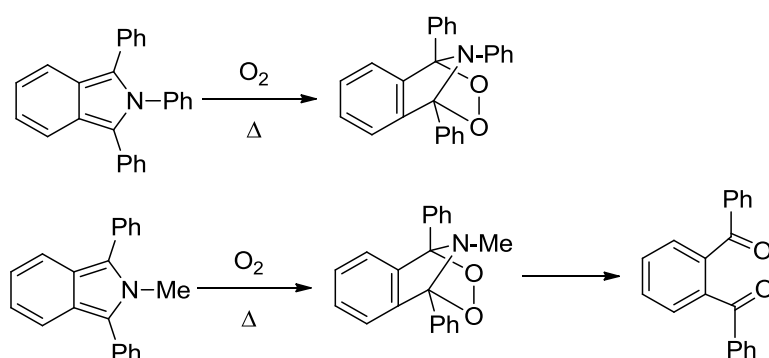
Os isoindóis são estruturas conhecidas por apresentarem uma elevada sensibilidade à presença de ar, sendo descrita a formação de produtos de autooxidação até durante o manuseamento destes compostos.

No início dos anos 50 do século XX, Kochi e Singleton apresentaram um dos primeiros trabalhos reportando a formação de derivados ftalimídicos com origem em isoindóis *N*-substituídos (esquema 3.17).³⁵

Poucos anos mais tarde Theilacker e Schmidt reportaram também a obtenção fotoquímica de peróxidos cíclicos a partir de isoindóis 1,2,3-substituídos (esquema 3.18).³⁵

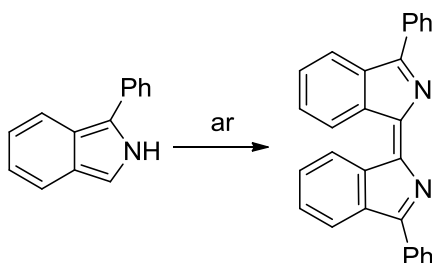


Esquema 3.17.



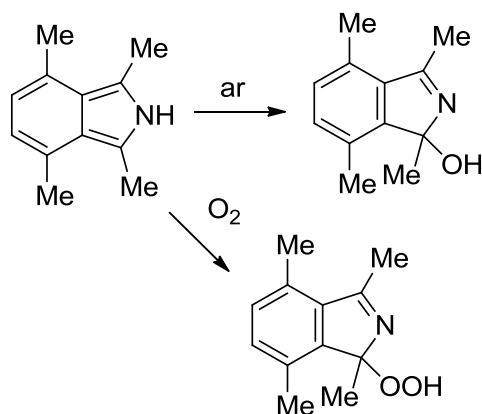
Esquema 3.18.

Em 1967, Sternbach e colaboradores apresentaram a formação de um produto resultante do acoplamento oxidativo entre isoindóis que não possuíam qualquer *N*-substituente (esquema 3.19).³⁶



Esquema 3.19

Pela mesma altura, Bonnet e colaboradores mostraram que a existência de substituição nos anéis pirrólico e benzênico de isoindóis sem *N*-substituente, resultava num padrão oxidativo diferente com obtenção de álcoois e hidroperóxidos (esquema 3.20.).³⁷



Esquema 3.20.

De forma a estudar a influência da substituição no átomo de azoto, Kricka e Vernon estudaram a influência de diferentes grupos no 1,3,4,7-tetrametilisoindol *N*-substituído, concluindo que todos se convertem na respetiva ftalimida (esquema 3.21.).³⁵

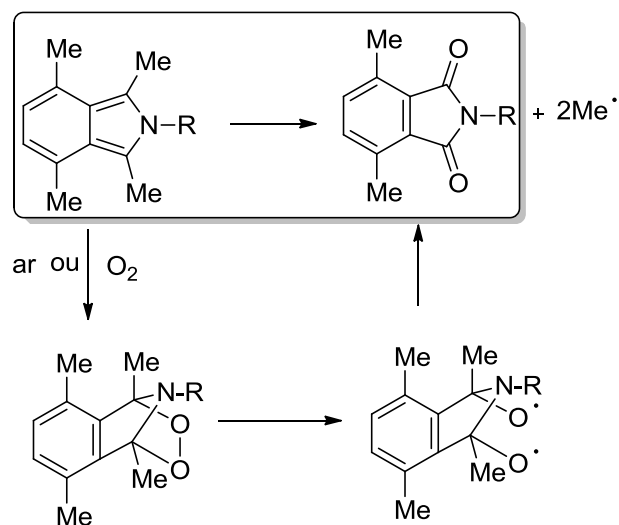
A formação de ftalimidas a partir de isoindóis já havia sido descrita por Kochi e Singleton (esquema 3.17.), contudo no caso apresentado por Kricka e Vernon há necessidade de quebra de uma ligação C-C. Os autores sugerem uma via radicalar para justificar o produto formado (esquema 3.21.).³⁵

No seguimento do estudo anterior, os mesmos autores avaliaram a formação de outro tipo de produtos quando os grupos metilo em posições-1,3 do isoindol eram substituídos por grupos fenilo (esquema 3.22.).

Foi sugerido um mecanismo similar ao anterior, contudo, uma vez que a perda de radicais fenilo é bastante mais difícil do que a perda de radicais metilo, o tipo de composto obtido é completamente diferente.

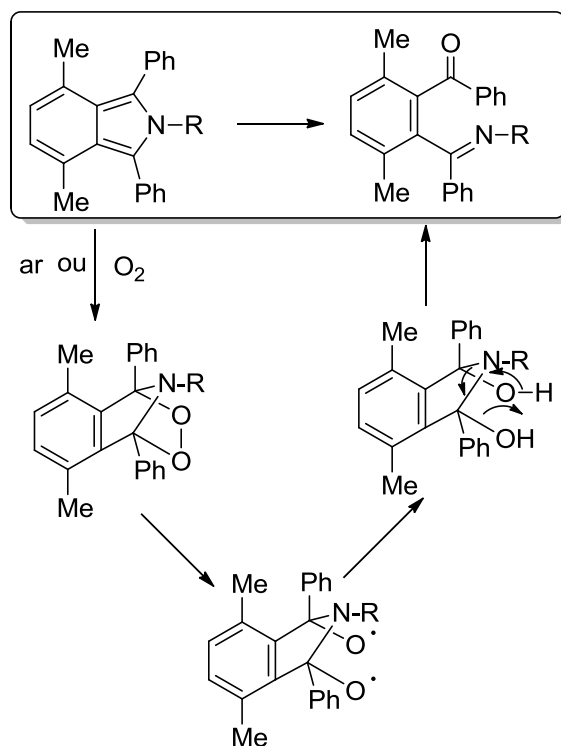
1,3-Dioxopirrolporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

R = Me, Et, PhCH₂, Ph



Esquema 3.21.

R = Me, PhCH₂, Ph

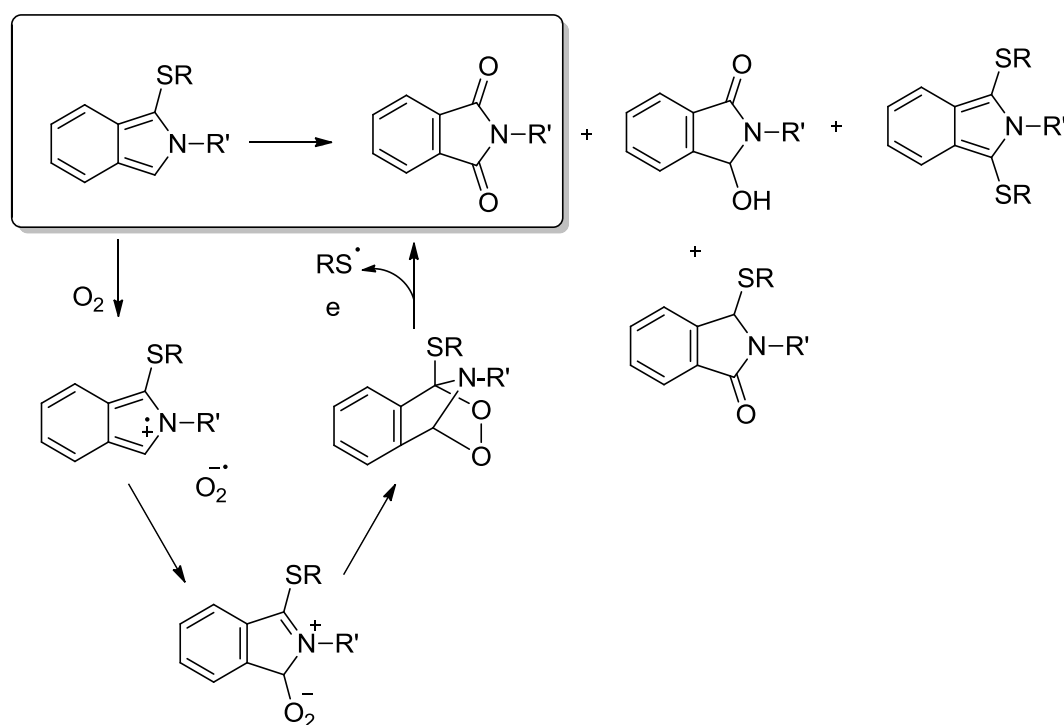


Esquema 3.22.

1,3-Dioxopirrolloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

Os autores sugeriram que uma vez formado o di-radical, a partir do endoperóxido correspondente, seguiu-se a abstração de átomos de hidrogénio provenientes do diclorometano, que é usado como solvente da reação, e posterior desidratação com obtenção da imina correspondente (esquema 3.22.).³⁸

Na década de 80, Sternson *et al.* regressaram à temática da formação de ftalimidas a partir de isoindóis cuja unidade de pirrol se encontra substituída numa posição α , reiterando o mecanismo proposto anteriormente pelos outros autores (esquema 3.23.).³⁹

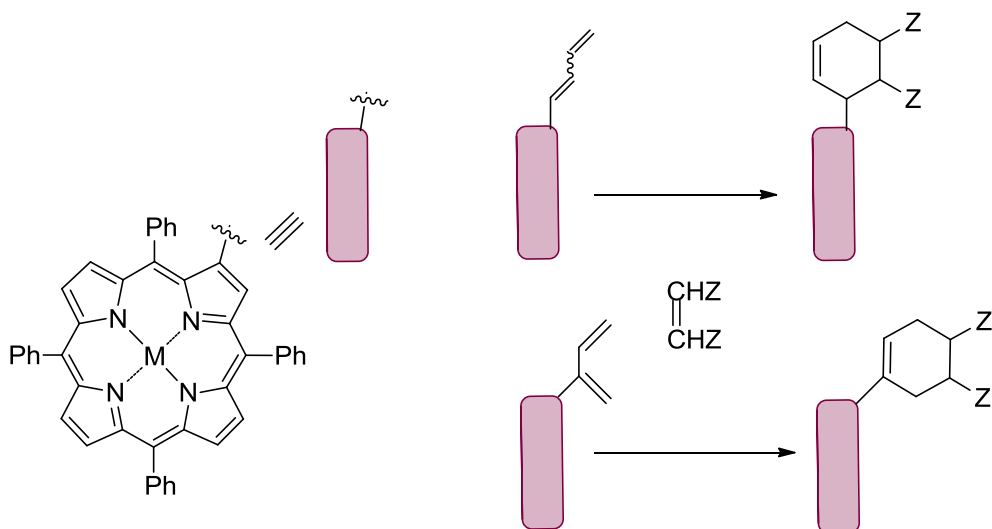


Esquema 3.23.

De uma maneira geral, os processos de oxidação de isoindóis surgem como um impedimento à síntese de derivados a partir destes precursores pirrólicos, não constituindo na maior parte das vezes uma ferramenta de obtenção de derivados com algum interesse aplicacional. É por isso uma área pouco explorada na literatura, sendo que mesmo em publicações mais recentes, aparece como um tópico secundário da publicação e sem interesse para a via sintética a atingir.⁴⁰

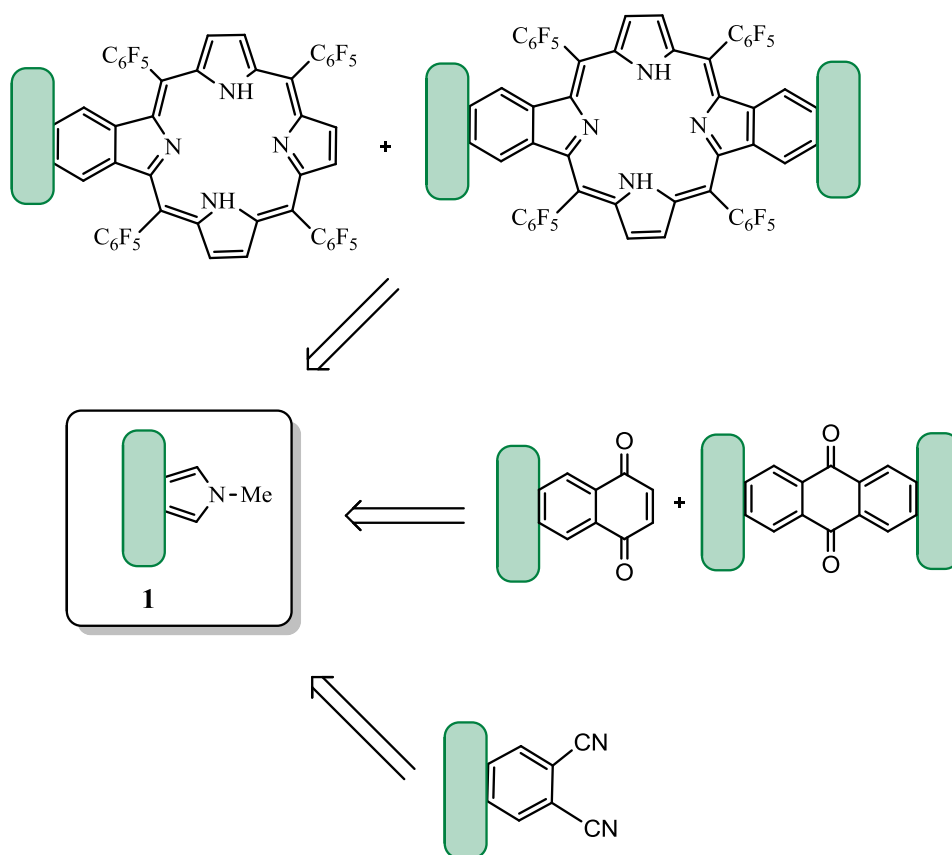
3.1.5. Síntese e Reatividade de Novas 1,3-Dioxopirroloporfirinas

O sucesso do trabalho apresentado no capítulo anterior, levou-nos a considerar a pirroloporfirina **1** como uma nova plataforma para a realização de cicloadições de Diels-Alder com porfirinas, à semelhança do que havia já acontecido, no nosso grupo de investigação, com outros dienos porfirínicos nomeadamente os apresentados no esquema 3.24.⁴¹



Esquema 3.24.

Como tal, foram desenhados alguns novos compostos que poderiam ser obtidos tendo por base a cicloadição do precursor **1** com diferentes dienófilos, como a 5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (**TPP-PF**), 1,4-benzoquinona e fumaronitrilo (esquema 3.25.).



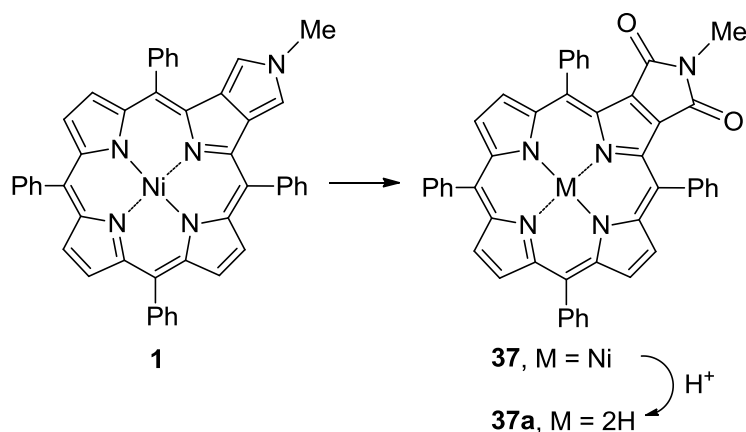
Esquema 3.25.

Com este objetivo em mente, refluxou-se uma solução de pirroloporfirina **1** e cada um dos dienófilos referidos em ligeiro excesso, em tolueno.⁴²

Contudo, verificou-se, por TLC, que ao fim de 48h e após adições sucessivas de cada um dos dienófilos, não se havia formado qualquer composto em quantidade significativa. Porém, observaram-se várias manchas em quantidades vestigiais, que inicialmente se pensou serem resultado da degradação da porfirina de partida, facto que era corroborado pela semelhança do padrão de manchas nas TLC de controlo de todas as reações com os diferentes dienófilos. Houve, no entanto, uma pequena diferença observada nas três reações que nos captou a atenção. No caso particular da reação com a **TPP-PF**, observou-se que uma mancha de cor verde intensa, com um valor de R_f inferior ao valor de ambas as porfirinas de partida, parecia evidenciar uma maior quantidade deste composto de

degradação. As reações foram repetidas por mais duas vezes, mantendo-se a tendência de obtenção do composto de cor verde intensa no caso em que era usada a **TPP-PF**, por oposição ao uso de 1,4-benzoquinona e de fumaronitrilo. Intrigados com este facto, decidiu-se estender a reação com a **TPP-PF** por mais 24h, num total de 72 h de reação, tendo-se verificado um ligeiro aumento da formação do dito composto. Decidiu-se parar a reação por evaporação do tolueno e proceder à purificação do novo composto em TLC preparativa usando CH_2Cl_2 como eluente.

O produto isolado apresentou um ião molecular com um valor de m/z 753, que sugeriu a substituição, no anel pirrólico externo ao macrocilo, de dois átomos de hidrogénio por dois átomos de oxigénio, com obtenção da 1,3-DPP **2** (esquema 3.26.).



Condições experimentais na Tabela 3.1.

Esquema 3.26.

Por outro lado, no espectro de RMN de ^1H (Fig. P3.1. do procedimento experimental) do composto observaram-se, na zona característica da ressonância de prótons aromáticos, dois conjuntos de sinais relativos à ressonância de dois grupos de prótons distintos: os prótons dos quatro grupos fenilo em posição *meso*, com uma integração correspondente a vinte prótons, e os prótons β -pirrólicos, com uma integração correspondente a seis prótons. Os sinais correspondentes à ressonância dos prótons β -pirrólicos apresentaram um perfil característico de uma molécula com um elevado grau de

simetria, tendo-se observado três sinais distintos: dois dupletos (δ 8,56 ppm e δ 8,73 ppm), cada um com uma integração correspondente a dois prótons, e um singlete (δ 8,63 ppm) também com uma integração correspondente a dois prótons. Para além destes sinais, observou-se apenas mais um singlete a δ 3,03, com uma integração correspondente a três prótons.

Procedeu-se ainda a uma análise mais pormenorizada dos diferentes espectros de RMN de ^{13}C (Fig. P3.2. do procedimento experimental) e HMBC (Fig. 3.5.), tendo-se observado a correlação, em 3J , entre o sinal correspondente à ressonância dos prótons $\text{H}2^1$ e o sinal correspondente à ressonância dos carbonos carbonílicos, no espectro bidimensional de HMBC (Fig. 3.5.). A indicação no espectro de massa de uma possível oxidação e as evidências apresentadas nos diferentes espectros de RMN, levou-nos a considerar a estrutura **37** como a efetivamente correspondente ao composto formado.

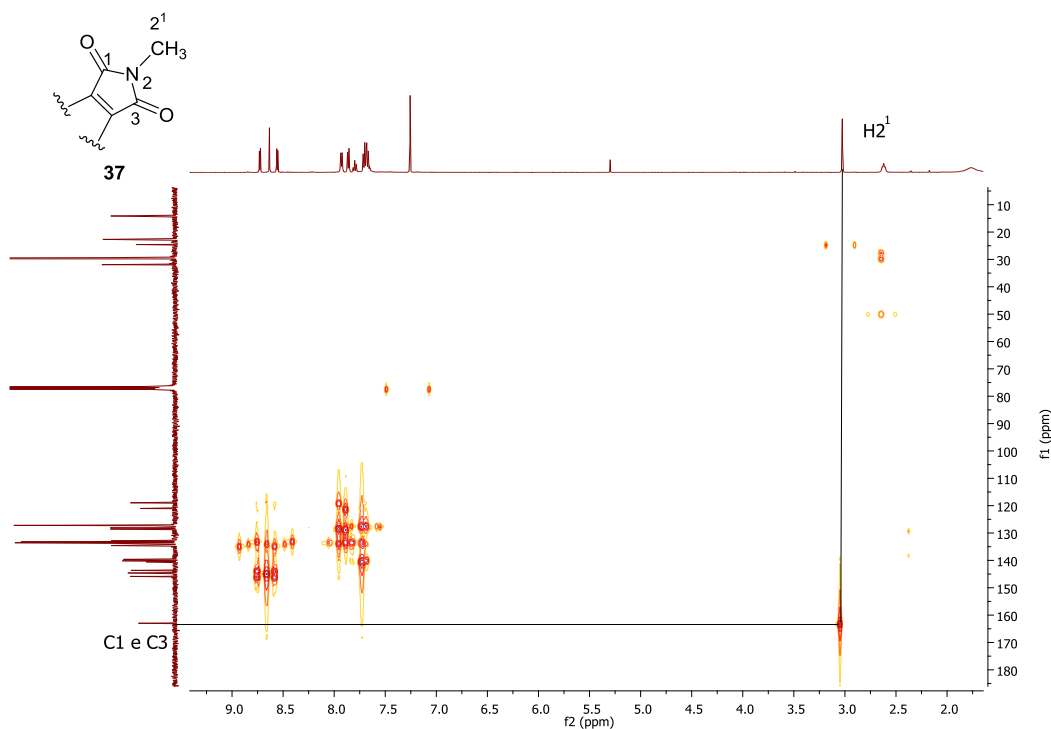


Figura 3.5. Espectro de HMBC do composto **37**.

Uma vez resolvida a estrutura do composto, e dada a cor verde intensa do mesmo, decidiu-se proceder à sua descomplexação, com o intuito de avaliar alguma particularidade fotofísica, nomeadamente a absorção na gama do visível, que justificasse algum investimento do ponto de vista sintético, neste derivado. Como tal, tratou-se a 1,3-DPP obtida com uma mistura $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ 9:1, à temperatura ambiente durante 5 minutos. Ao fim deste tempo, não se observou por TLC a existência de qualquer composto de partida, tendo-se formado um novo produto, com um R_f bastante próximo do seu precursor, indicando, por isso, a obtenção do respetivo derivado descomplexado. A mistura foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de Na_2CO_3 e extraída com CH_2Cl_2 . Os produtos foram purificados por TLC preparativa, usando CH_2Cl_2 como eluente.

O espectro de massa apresentou um pico com um valor m/z 698 correspondente ao ião molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ e o espectro de RMN de ^1H um sinal a δ -2,15 ppm característicos da ressonância dos prótons NH internos do macrociclo porfirínico, dados que estavam em perfeita conformidade com a obtenção do produto **37a** (esquema 3.26.).

Registou-se também o espectro de UV-Vis (Fig. 3.6.) e verificou-se a existência de uma banda Q de absorção a 700 nm. Este dado foi fundamental para o trabalho que a seguir se descreve, uma vez mostrou a potencialidade deste composto para a sua utilização em PDT. Este facto está relacionado com a exigência por parte da técnica terapêutica, de PS com bandas de absorção que permitam a excitação, mesmo em tecidos tumorais mais profundos.

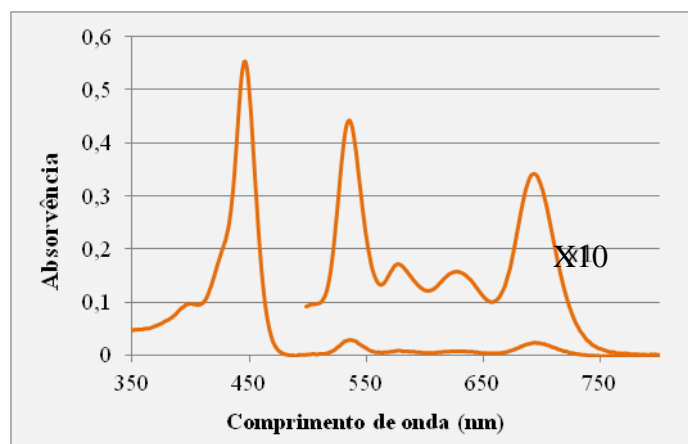


Figura 3.6. Espectro de UV-Vis da 1,3-DPP **37a** a 3,0 μM em DMSO.

Estudos de maximização do rendimento da 1,3-DPP 37

A possibilidade de usar a base livre do macrociclo **37** em PDT, tornou este composto num interessante alvo de estudo sintético, uma vez que até esta fase do trabalho ele havia sido apenas obtido em quantidades muito pequenas.

Mais ainda, a nova função imida fundida em posições β -pirrólicas da porfirina, poderia servir como uma interessante plataforma sintética para a construção de derivados porfirínicos originais, com diferentes tipos de funcionalização.

De facto, a 1,3-DPP **37** havia sido obtida com um rendimento de apenas 6%, aquando do refluxo da pirroloporfirina **1** e **TPP-PF** em tolueno, durante 72 h, sendo este um rendimento impeditivo para prosseguir o trabalho. Igualmente, algumas questões se mantinham por esclarecer, nomeadamente o motivo da obtenção de **37** em maior quantidade aquando da utilização de **TPP-PF**, em contraponto com a 1,4-benzoquinona e o fumaronitrilo. Decidiu-se por isso levar a cabo um estudo sistemático que permitisse responder, o melhor possível, a todas as questões colocadas.

O primeiro ponto que se pretendeu esclarecer, relacionou-se com a ligação entre a presença de dienófilo e a formação do derivado oxidado **37**. Como tal, começou-se por refluxar isoladamente a pirroloporfirina **1** em tolueno durante 72h. Ao fim deste tempo, observou-se a formação do composto **37** (5%), tendo-se recuperado cerca de 60% da pirroloporfirina de partida (Tabela 3.1., i). Este novo dado permitiu-nos inferir que a produção de 1,3-DPP não estava relacionada com a presença de dienófilo.

De modo a verificar a influência do aumento de temperatura na produção de derivado **37** decidiu-se aumentar a temperatura da reação para 150 °C, usando como solvente *o*-diclorobenzeno (*o*-DCB) (Tabela 1, ii). Observou-se que o aumento da temperatura se traduzia num aumento significativo do rendimento de 1,3-DPP, de 5% para 28%, tendo diminuído a quantidade de pirroloporfirina recuperada, de 60 para 27% (Tabela 1, ii).

Tabela 3.1. Rendimento de formação dos derivados **37** e **38** usando diferentes condições.

Condições		1 (%) (recuperada)	37 (%)	38* (%)
i	tolueno, refluxo, 72 h	60	5	-
ii	<i>o</i> -DCB, 150 °C, 72 h	27	28	-
iii	<i>o</i> - DCB, refluxo, 72 h	19	34	-
iv	<i>o</i> - DCB, t.a., irradiação, 1.5 h	65	6	21
v	TPP, <i>o</i> - DCB,, t.a., irradiação, 1.5 h	-	15	35
vi	1. TPP, <i>o</i> - DCB,o, t.a., irradiação, 1.5 h; 2. Refluxo, 16 h	-	53	-
vii	1. TPP, <i>o</i> - DCB,, t.a., irradiação, 1.5 h; 2. DDQ, refluxo, 30 min	-	70	-
viii	<i>o</i> - DCB, refluxo, N ₂	99	-	-
ix	<i>o</i> - DCB, refluxo, protegido da luz	99	-	-

* Esta estrutura será apresentada mais à frente, de acordo com a evolução da discussão do trabalho.

Estes resultados animadores, conduziram-nos a ponderar o aumento de temperatura para 180 °C. Como tal, refluxou-se uma solução de precursor **1**, em *o*-DCB durante 72 h, tendo-se verificado que o aumento do rendimento do produto desejado, de 28% para 34%, foi mais moderado, ocorrendo também, apenas uma pequena diminuição na quantidade de composto de partida recuperado, de 27% para 19% (Tabela 3.1., iii).

Estes primeiros testes mostraram que a reação está dependente da temperatura, contudo este não era o único fator determinante.

Tratando-se de uma reação de oxidação, a presença de oxigénio é também uma variável fundamental. Este facto foi comprovado numa experiência controlo, em que a pirroloporfirina **1** foi refluxada durante 72h em *o*-DCB, sob atmosfera de azoto previamente tratada com solução de Fieser (Tabela 3.1., viii). Neste caso, o precursor **1** foi recuperado na totalidade, deixando inequívoco que o oxigénio do ar a que a reação está exposta é o responsável pela oxidação.

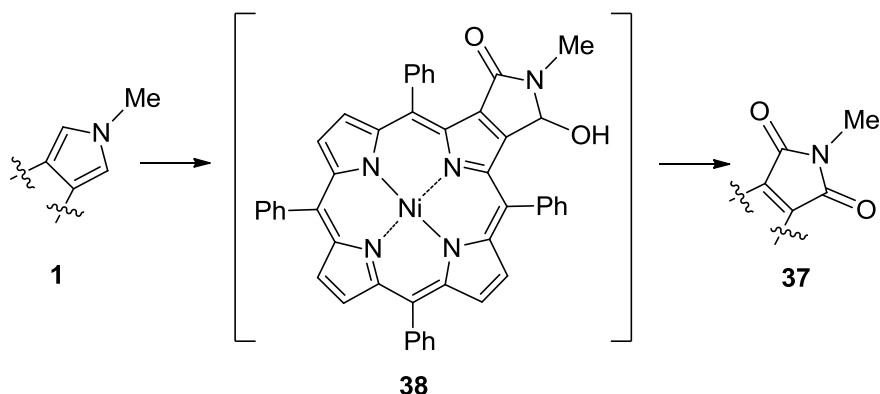
No entanto, seria pouco provável que a reação estivesse a ocorrer com o oxigénio no seu estado de energia fundamental; a mistura reacional estava exposta à luz ambiente e na presença de um PS, que era a própria porfirina de partida. A hipótese que se colocou foi a de que a reação estivesse a ocorrer preferencialmente via ¹O₂.

Tendo em conta a possibilidade anterior, desenhou-se uma experiência controlo adicional; a pirroloporfirina **1** foi refluxada durante 72h em *o*-DCB, exposta ao oxigénio do ar, mas totalmente protegida da luz ambiente (Tabela 3.1., ix). Também neste caso, toda a pirroloporfirina **1** foi recuperada. A suposição de que a reação de formação do composto **37** ocorria via geração de $^1\text{O}_2$ ganhou, com este novo dado, mais sustentabilidade.

Face às reações de controlo efetuadas, seria de esperar que a utilização de condições experimentais que favorecessem a produção de $^1\text{O}_2$ aumentasse de forma significativa o rendimento da reação. Uma das possibilidades testadas foi o uso de uma fonte adicional de irradiação. Seguindo esta estratégia, irradiou-se uma solução de pirroloporfirina **1**, à temperatura ambiente, com um projetor de luz branca de 500 W e uma potência de 350 W.m^{-2} . Ao fim de 1,5 horas de reação detetou-se, por TLC, para além da 1,3-DPP **37**, a formação de um novo composto de cor vermelha, com uma polaridade superior aos dois anteriores. Apesar de ainda existir na reação uma grande quantidade de composto de partida por reagir, optou-se por parar a reação de modo a identificar o novo composto formado, com o objetivo de perceber o efeito da radiação na evolução da reação.

A mistura reacional foi separada recorrendo a cromatografia preparativa em sílica gel, utilizando, pela seguinte ordem, os eluentes: éter de petróleo (EP), CH_2Cl_2 e $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$. Foi recuperado 65% da pirroloporfirina de partida e isolada a 1,3-DPP **37** com 6 % de rendimento. Isolou-se também o composto de cor vermelha que apresentou no espectro de massa um pico a um valor m/z 756, ou seja mais três unidades de massa que o macrociclo **37**. Este resultado parecia indicar a presença do composto **3**, caso o pico do espectro de massa correspondesse ao ião molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ (esquema 3.27.).

A análise do espectro de RMN de ^1H (Fig. P3.6. do procedimento experimental) do novo derivado formado começou por ser feita por comparação com o espectro do derivado **37**. No espectro de RMN de ^1H do novo composto, os sinais correspondentes à ressonância dos prótons β -pirrólicos passaram a aparecer na forma de dois dupletos a δ 8,66 e a 8,77 ppm, um sistema AB a δ 8,69 e 8,71 ppm e um multipeto a δ 8,71 ppm, indicando a inexistência de um plano de simetria na molécula.



Condições experimentais na Tabela 3.1.

Esquema 3.27.

No entanto, o sinal correspondente à ressonância dos prótons CH_3 manteve a multiplicidade de singlete a δ 3,03 ppm, indicando que o anel de cinco lados, fundido nas posições 2 e 3, se tinha mantido intacto. Registou-se também o aparecimento de um novo sinal a δ 5.76 ppm na forma de duplete com uma integração correspondente a um próton. Tendo em conta o derivado hidroxilado **38** (esquema 3.27.), este novo sinal poderia corresponder ao próton que está a acoplar com o grupo hidroxilo. Esta possibilidade foi confirmada por RMN de ^1H após adição de D_2O . A alteração da multiplicidade do referido próton, que na presença de D_2O (Fig. P3.7. do procedimento experimental) se apresentou na forma de singlete, corroborou a hipótese colocada, permitindo confirmar que a estrutura **3** correspondia ao composto vermelho formado. No espectro de RMN de ^{13}C (Fig. P3.8. do procedimento experimental) observou-se ainda um sinal correspondente à ressonância de um carbono carbonílico a δ 162,4 ppm, o que provou a existência do carbono C1 (Fig. 3.7.), bem como a correlação em 3J de C1 com H_2^1 e H_3 (Fig. 3.7.).

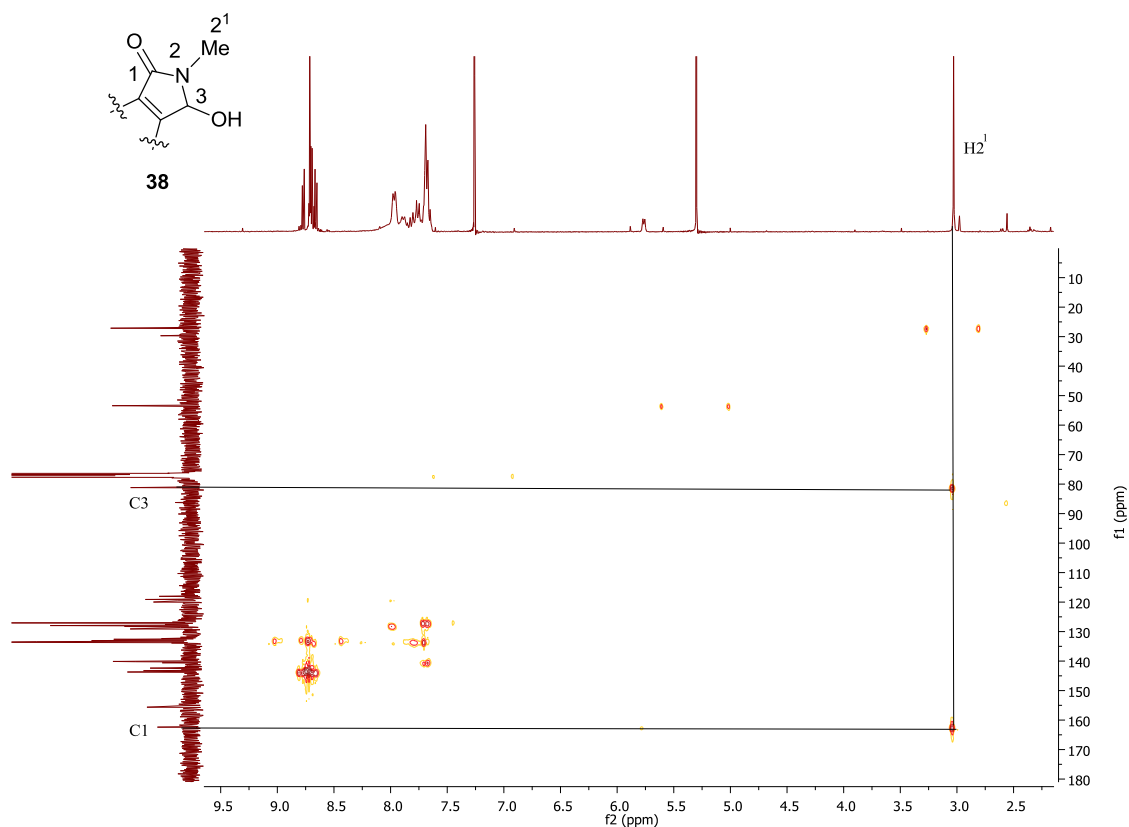


Figura 3.7. Espectro de HMBC do composto **38**.

Os novos resultados obtidos permitiram, nesta fase do trabalho, tirar algumas relações importantes:

- a) a luz é uma variável extremamente importante no decorrer da reação, possibilitando a formação de um composto não observado aquando da utilização de condições de aquecimento clássicas;
- b) a utilização de uma fonte de radiação adicional minimiza a degradação observada anteriormente e que se traduzia no aparecimento de bases de cor preta nas TLC de controlo da reação.

No entanto, o rendimento do composto de interesse permanecia pouco apelativo.

Colocou-se uma nova variável para avaliação e discussão; quando o precursor **1** é exposto a luz, o $^3\text{O}_2$ existente no meio reacional é convertido em $^1\text{O}_2$, sendo esta a espécie de oxigénio que reage com a própria porfirina que inicialmente desencadeia o processo fotoquímico. No entanto, o PS que permitia a produção da espécie reativa de oxigénio, encontrava-se complexado com níquel. Este tipo de complexos é normalmente associado a uma taxa de produção de $^1\text{O}_2$ inadequada.⁴³ Provavelmente, a adição de um PS não complexado, ao meio reacional, poderia aumentar a quantidade de $^1\text{O}_2$ na reação e consequentemente o rendimento do produto pretendido.

Para estudar a possibilidade de um aumento de rendimento com a adição de um PS adicional, optou-se por escolher a 5,10,15,20-tetrafenilporfirina (**TPP**) como geradora suplementar de $^1\text{O}_2$, uma vez, que comparativamente à **TPP-PF**, é muito mais acessível sintética e economicamente. Desta forma, uma solução contendo pirroloporfirina **1** e **TPP** em *o*-DCB foi irradiada durante 1,5 h. Durante o decorrer da reação observou-se uma mudança gradual da cor da mistura reacional de verde-escuro (cor do composto **1**) para vermelho vivo, o que indicou, juntamente com a TLC de controlo, a formação, em grande quantidade, do intermediário **38**. Após ser dada por terminada a reação, a mistura reacional foi separada recorrendo a TLC preparativa, usando o mesmo sistema de eluentes já mencionado aquando da descrição e discussão das condições iv (Tabela 3.1.). De notar que não foi recuperada porfirina de partida e que os rendimentos dos compostos **37** e **38** aumentaram, para um total de 50%, relativamente aos rendimentos obtidos com condições de irradiação adicional e sem a presença de **TPP**. Ainda de referir, que além do composto **38**, foi também observada a formação de outros compostos minoritários de cor vermelha, contudo a sua instabilidade em sílica não permitiu o isolamento e caracterização destas frações minoritárias.

Face aos resultados obtidos, procurou-se promover a oxidação do intermediário **38** em imida **37**. Para atingir este objetivo usaram-se duas estratégias:

- a) aquecimento em condições clássicas e
- b) adição de um oxidante adicional, recorrendo também ao aquecimento.

Numa primeira abordagem, a mistura reacional obtida usando as condições v (tabela 3.1.) foi refluxada durante 16 horas em *o*-DCB, o que resultou na oxidação completa de **38** a **37**, que foi isolado com um rendimento de 53% (tabela 3.1., vi).

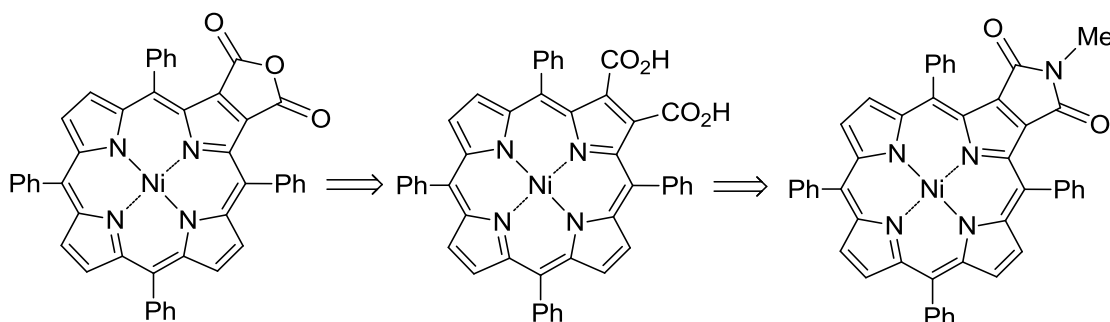
A segunda abordagem utilizada, que pressupôs a adição de DDQ à mistura reacional obtida usando as condições v (tabela 3.1.), apresentou-se muito mais efetiva no que diz respeito à obtenção do derivado **37**, uma vez que após 30 minutos de refluxo, este composto foi obtido com um rendimento de 70 %.

O rendimento final de 70 %, face ao inicialmente obtido de 5 %, permitiu iniciar o estudo de reatividade que se descreve a seguir, usando o novo composto **37** como precursor.

Hidrólise da 1,3-DPP **37**

Uma vez encontrado o caminho para produzir o derivado **37** com um rendimento que o tornou apelativo para posteriores transformações, testaram-se novas abordagens para obtenção das novas porfirinas β -substituídas, que a seguir se descrevem.

Numa primeira fase idealizou-se levar a cabo a hidrólise do anel imida, com o objetivo de gerar o respetivo derivado diácido (esquema 3.28.). A partir deste derivado, facilmente se poderia gerar o anidrido correspondente (esquema 3.28.). Os derivados de anidrido, são compostos que no geral reagem com diferentes tipos de aminas, permitindo novas formas de funcionalização nesta posição.



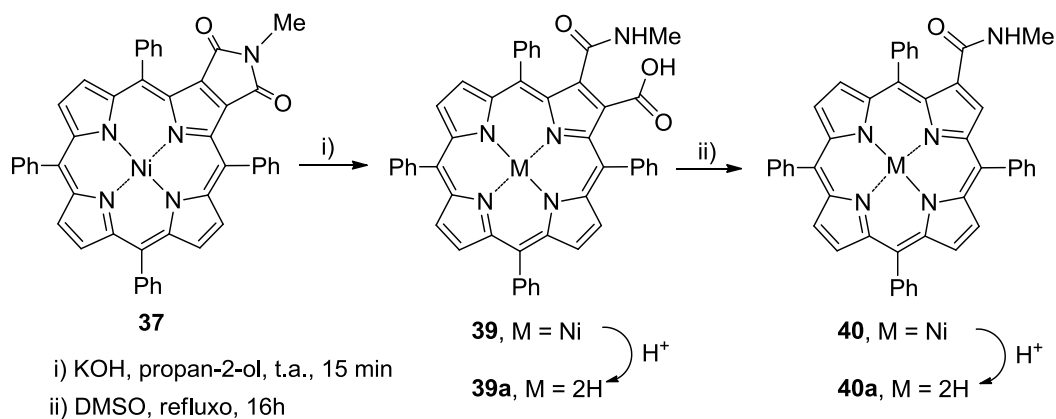
Esquema 3.28.

A primeira tentativa de hidrólise da imida **37** foi efetuada recorrendo a condições básicas. Para este efeito agitou-se uma solução de precursor **37** e KOH em propan-2-ol durante 15 minutos. Durante este tempo, observou-se uma mudança gradual da cor da mistura reacional de verde-escuro para vermelho vivo, tendo-se observado por TLC que ao fim dos 15 minutos já não existia composto de partida no meio reacional. A reação foi terminada por neutralização com uma solução de ácido cítrico e extraída com CH₂Cl₂. O isolamento do composto foi conseguido após purificação por cromatografia em coluna e precipitação em CH₂Cl₂/EP.

No espectro de massa do produto obtido observou-se um ião molecular de valor m/z 771, que não estava em conformidade com ião molecular $[M]^{++}$ a m/z 758 esperado, no caso de ocorrência de hidrólise total. No entanto, o pico obtido estava de acordo com uma hidrólise parcial e por isso com a formação do derivado **39** (esquema 3.29.).

O espectro de RMN de ¹H (Fig. P3.10. do procedimento experimental) do novo derivado obtido apresentou os sinais correspondentes à ressonância dos prótons β-pirrólicos que apareceram na forma de dois dupletos a δ 8,45 e 8,50 ppm, um multipletto a δ 8,56-8,58 ppm e um sistema AB a δ 8,64 ppm, o que mostrou a inexistência de um plano de simetria na molécula. Observou-se também o sinal correspondente à ressonância dos prótons metílicos a δ 2,29 ppm, o que mostrou que efetivamente a hidrólise do composto não havia sido total. O sinal correspondente à ressonância destes prótons apareceu na forma de dupletto, indicando o acoplamento com o próton H2² (Fig. 3.8.).

1,3-Dioxopirrolloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica



Esquema 3.29.

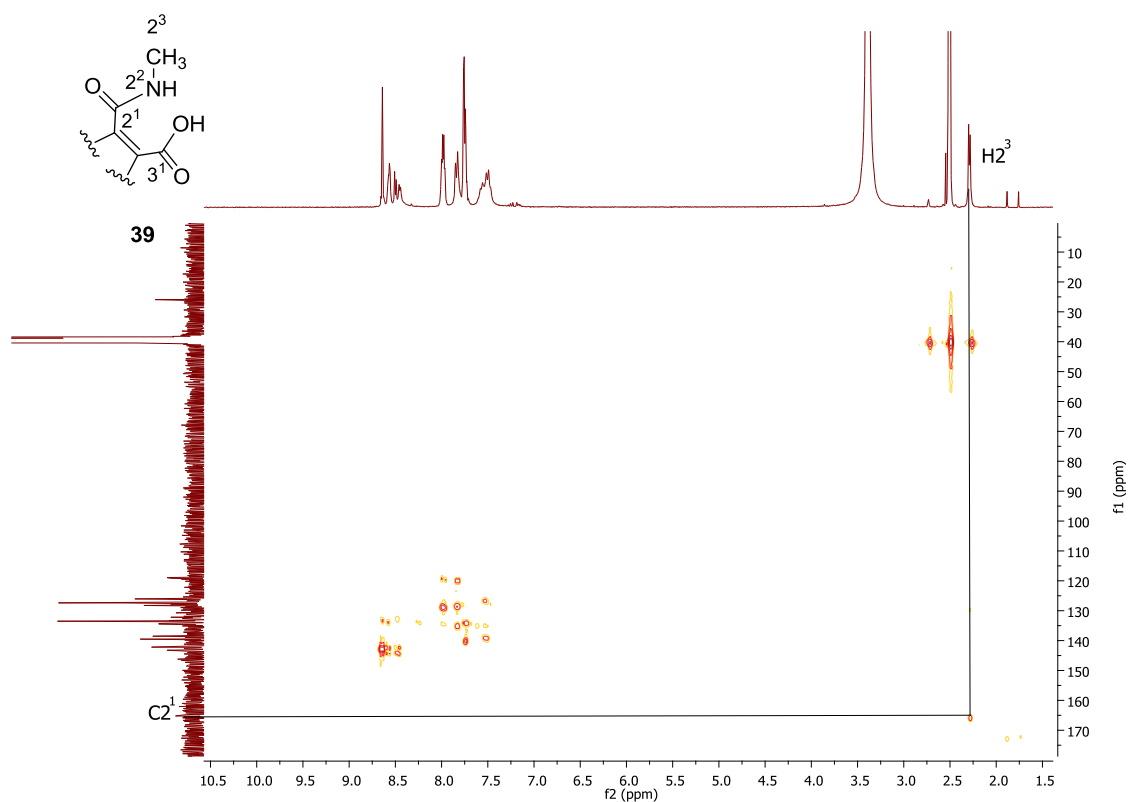


Figura 3.8. Espectro de HMBC do composto **39**.

Apesar de não ser possível observar o sinal do próton H2^2 no espectro RMN de ^1H , talvez devido à labilidade típica de prótons de grupos amida, observou-se a existência de correlação no espectro de HMBC (Fig. 3.8.), em 3J , de H2^3 o carbono carbonílico H2^1 a δ 162,0 ppm (Fig. 3.8.).

O produto parcialmente hidrolisado foi obtido com um rendimento de 84 %.

À semelhança do que havia sido efetuado com o precursor **37**, também o composto **39** foi tratado com uma mistura $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ 9:1, à temperatura ambiente durante 5 minutos, com objetivo de obter o respetivo derivado não complexado. Ao fim deste tempo, não se observou por TLC a existência de qualquer composto de partida, tendo-se formado um novo produto, com um R_f bastante próximo do seu precursor, indicando, por isso, a obtenção do derivado esperado.

A mistura reacional foi neutralizada com solução aquosa de Na_2CO_3 e extraída com CH_2Cl_2 . O produto foi purificado com TLC preparativa usando uma mistura de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5 como eluente. O ião molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ com um valor de m/z 716 observado no espectro de massa e a presença, no espectro de RMN de ^1H (Fig. P3.13. do procedimento experimental), de um sinal a δ -2,72 ppm característicos da ressonância dos prótons NH internos do macrociclo porfirínico, estavam em perfeita conformidade com a obtenção do produto **39a** (Fig. 3.29).

Numa tentativa de forçar a hidrólise total da 1,3-DPP **37**, de modo a obter derivado porfirínico di-ácido desejado, foram conduzidas várias abordagens no sentido de atingir este objetivo. Considerando a reação anterior, ou seja, utilização de uma base (KOH) várias hipóteses foram consideradas:

- a) aumento da quantidade de KOH,
- b) aumento do tempo de reação,
- c) aumento da temperatura.

Todavia, nenhuma das experiências realizadas nestas condições conduziu à formação da porfirina totalmente hidrolisada, mantendo-se a amida **39**, como único produto da reação.

Foram também tidas em consideração algumas condições ácidas, recorrendo à utilização de misturas HCl/H₂O, H₂SO₄/H₂O, HCl/H₂O/DMSO e H₂SO₄/H₂O/DMSO. Porém, mesmo após várias horas de reação, com elevação da temperatura até ao refluxo, quase todo o composto 1,3-dioxopirrólico de partida foi recuperado. Tentou-se também submeter os ácidos **39** e **39a**, às condições ácidas acima explanadas, contudo sem qualquer êxito.

Ainda de salientar que foram realizadas algumas incursões recorrendo ao aquecimento por micro-ondas de soluções ácidas e básicas de porfirina **37** e/ou **37a**. Mais uma vez todo o material de partida se converteu no derivado **39** ou **39a**. Considera-se esta temática, um assunto a ser estudado mais aprofundadamente. Ainda que a possibilidade de construir uma porfirina di-ácida nas posições β-pirrólicas, abrisse caminho para a obtenção de derivados altamente funcionalizados, optou-se, nesta fase do trabalho por abandonar, esta metodologia, dando prioridade à funcionalização direta do grupo imida, assunto também completamente inexplorado na literatura.

No entanto, antes de prosseguir é necessário ressaltar um dado importante registado durante os estudos onde se consideraram as diferentes condições de hidrólise em meio ácido do derivado **39**. Durante os ensaios em que foram utilizadas misturas de HCl/H₂O/DMSO e H₂SO₄/H₂O/DMSO, detetou-se que o aquecimento a refluxo destas soluções originava um novo composto, em quantidades vestigiais, com um R_f inferior ao respetivo precursor. Como tal, e como o mesmo resultado não havia sido observado aquando do uso de ácido **39** na ausência de DMSO, testou-se a influência do solvente na formação do novo produto. Assim, refluxou-se uma solução de composto **39** em DMSO durante 16 horas. Após este tempo não se observou, por TLC, a existência de material de partida no meio reacional. Todavia verificou-se a formação da imida **37**, com um rendimento de 19% e do novo derivado já observado anteriormente. A mistura reacional foi lavada com água e extraída com CH₂Cl₂, tendo sido subsequentemente cromatografada numa coluna de sílica usando CH₂Cl₂ como eluente.

O produto isolado revelou um pico a um valor *m/z* 727 no espectro de massa, o que sugeriu, estando na presença do ião molecular [M]⁺, a perda de uma molécula de CO₂ relativamente ao precursor **39**, com formação da porfirina **40** (esquema 3.29.). No espectro de RMN de ¹H (Fig. P3.14. do procedimento experimental) deste novo composto

observou-se a existência de um sinal adicional na forma de singlete a δ 8,90 ppm com uma integração correspondente a um próton, na zona correspondente à ressonância dos prótons β -pirrólicos, para além dos sinais correspondentes à ressonância dos seis prótons β -pirrólicos observados já no precursor **39**. Este dado indicou que a substituição 2,3 não se mantinha, sendo que o novo derivado apenas possuía uma posição β -pirrólica substituída. Observou-se também, que o sinal correspondente à ressonância dos prótons metílicos se manteve a δ 2,53 ppm, aparecendo na forma de duplete. No entanto, detetou-se um sinal a δ 5,39 ppm na forma de quarteto, indicando o acoplamento com os prótons metílicos. Na análise do espectro de HMBC, foi notória a correlação (3J) do singlete a δ 8.90 ppm com um carbono carbonílico a δ 167,7 ppm (Fig. 3.9.).

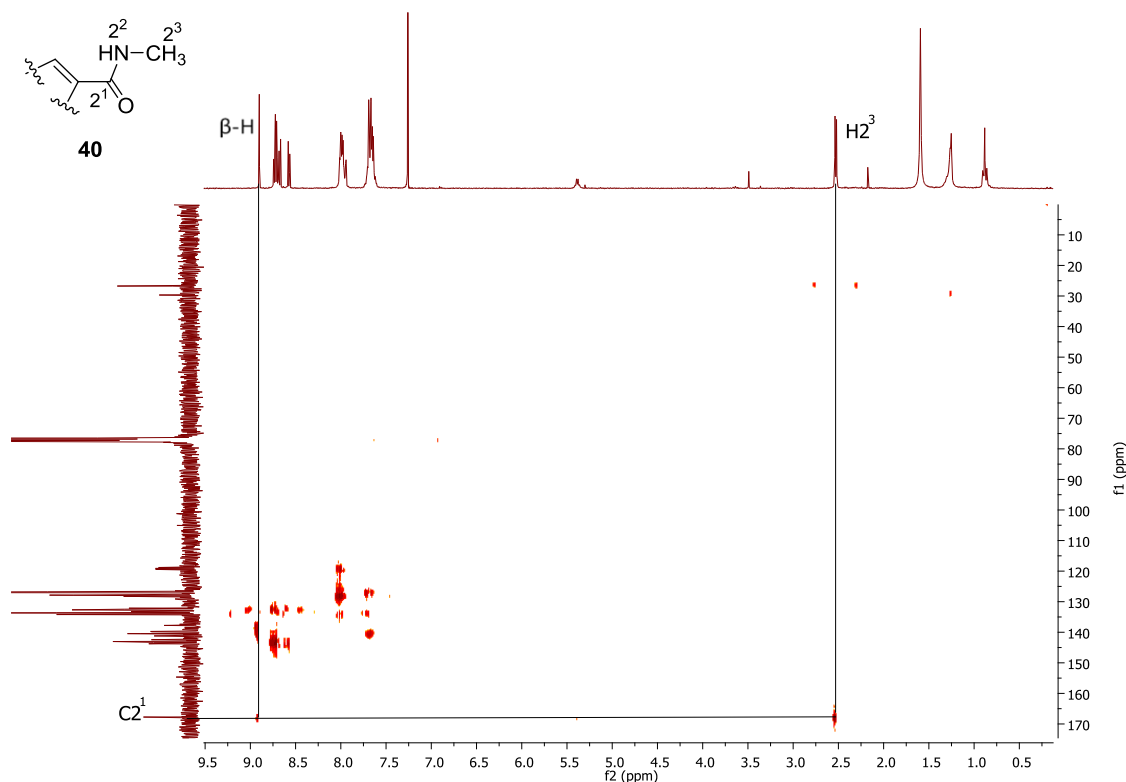


Figura 3.9. Espectro de HMBC do composto **40**.

A amida **40** foi ainda descomplexada usando um procedimento análogo ao já descrito para o seu precursor **39**. A única diferença residiu no solvente utilizado para purificar o composto em TLC preparativa, tendo sido usado, neste caso, CH_2Cl_2 como eluente.

A descomplexação, com obtenção da base livre **40a** foi confirmada nos espectro de massa e espectro de RMN de ^1H (Fig. P3.18. do procedimento experimental), tendo sido

observado o íon molecular $[M+H]^+$ a um valor de m/z 672, e o sinal a δ -2,76 ppm correspondente aos NH internos do macrociclo porfirínico.

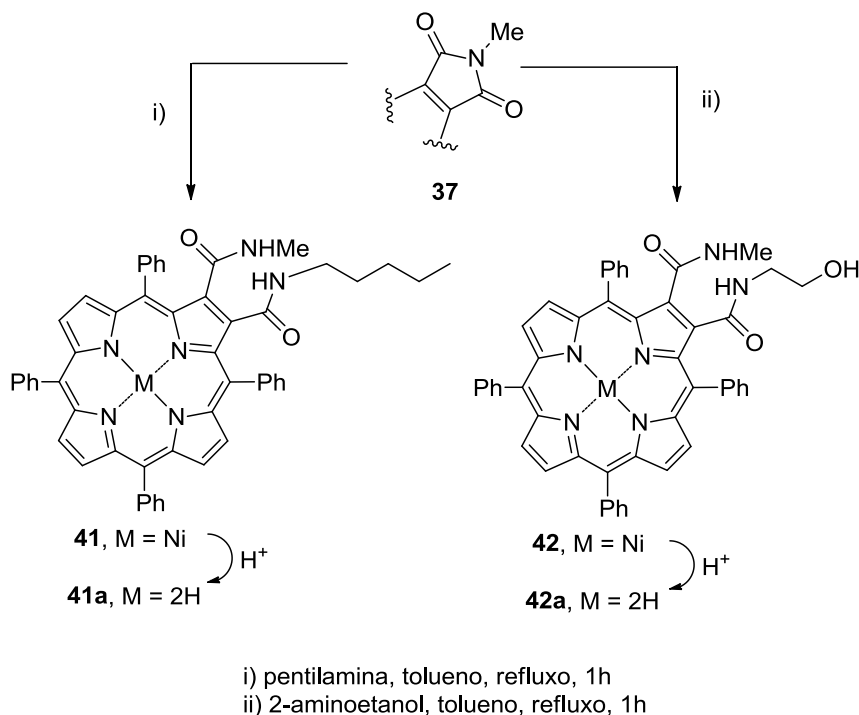
Reação da 1,3-DPP 37 com aminas

Como já referido anteriormente, decidiu-se também explorar a reatividade da 1,3-DPP **37**, com diferentes aminas.

Começou-se por estudar a reação com uma amina alifática simples, a pentilamina, refluxando a imida **37** numa solução de tolueno e amina em largo excesso. Observou-se uma mudança gradual da cor da mistura reacional de verde-escuro para vermelho-vivo, o que constituiu uma primeira indicação da ocorrência de reação e consequentemente a abertura do anel imida. Ao fim de 1 hora, a reação foi terminada, uma vez que, por TLC, não se observou qualquer vestígio de porfirina de partida. A mistura reacional foi neutralizada com solução aquosa de ácido cítrico, extraída com CH_2Cl_2 e precipitada em CH_2Cl_2/EP .

O espectro de massa da porfirina obtida revelou um pico com um valor de m/z 841, indicador da formação do produto **41** (esquema 3.30.), considerando o pico do íon molecular $[M+H]^+$.

A análise do espectro de RMN de 1H (Fig. P3.20. do procedimento experimental) do derivado obtido revelou o aparecimento de um novo sinal, com uma integração correspondente a dois prótons, no intervalo de desvios químicos característico de prótons NH de amidas (δ 6,18-6,26 ppm) confirmando o ataque da pentilamina ao precursor **37**, com consequente abertura do anel imida. Esta transformação foi também confirmada pelo desdobramento do sinal dos prótons metílicos a δ 2,56 ppm; no caso do composto **37** o sinal correspondente à ressonância destes prótons apareceu na forma de singlete, enquanto que, no caso do novo composto apareceu na forma de duplete, indicando o acoplamento com um próton NH. A correlação entre estes dois conjuntos de prótons foi confirmada no espectro de COSY (Fig. 3.10.).



Esquema 3.30.

Foi também possível observar os sinais correspondentes à ressonância dos prótons do grupo pentilo a δ 1,37-1,41 ppm, sendo que no espectro de COSY é possível observar a correlação entre H_2^2 e H_2^3 (Fig. 3.10.).

Na zona correspondente à ressonância de prótons aromáticos observaram-se os sinais correspondentes aos vinte prótons dos grupos fenilo em posições *meso* a δ 7,55-7,69 e 7,92-7,99 ppm e os sinais correspondentes à ressonância dos prótons β -pirrólicos a 8,60-8,64 e 8,68 ppm; estes últimos sinais aparecem na forma de um multipeto e de um singeto, respetivamente, indicando a inexistência de um plano de simetria na molécula.

O espectro de RMN de ^{13}C (Fig. P3.21. do procedimento experimental) permitiu também confirmar a estrutura proposta, pelo aparecimento de dois sinais distintos, a δ 165,66 e 166,68 ppm, na zona característica da ressonância de carbonos carbonílicos.

1,3-Dioxopirrolloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

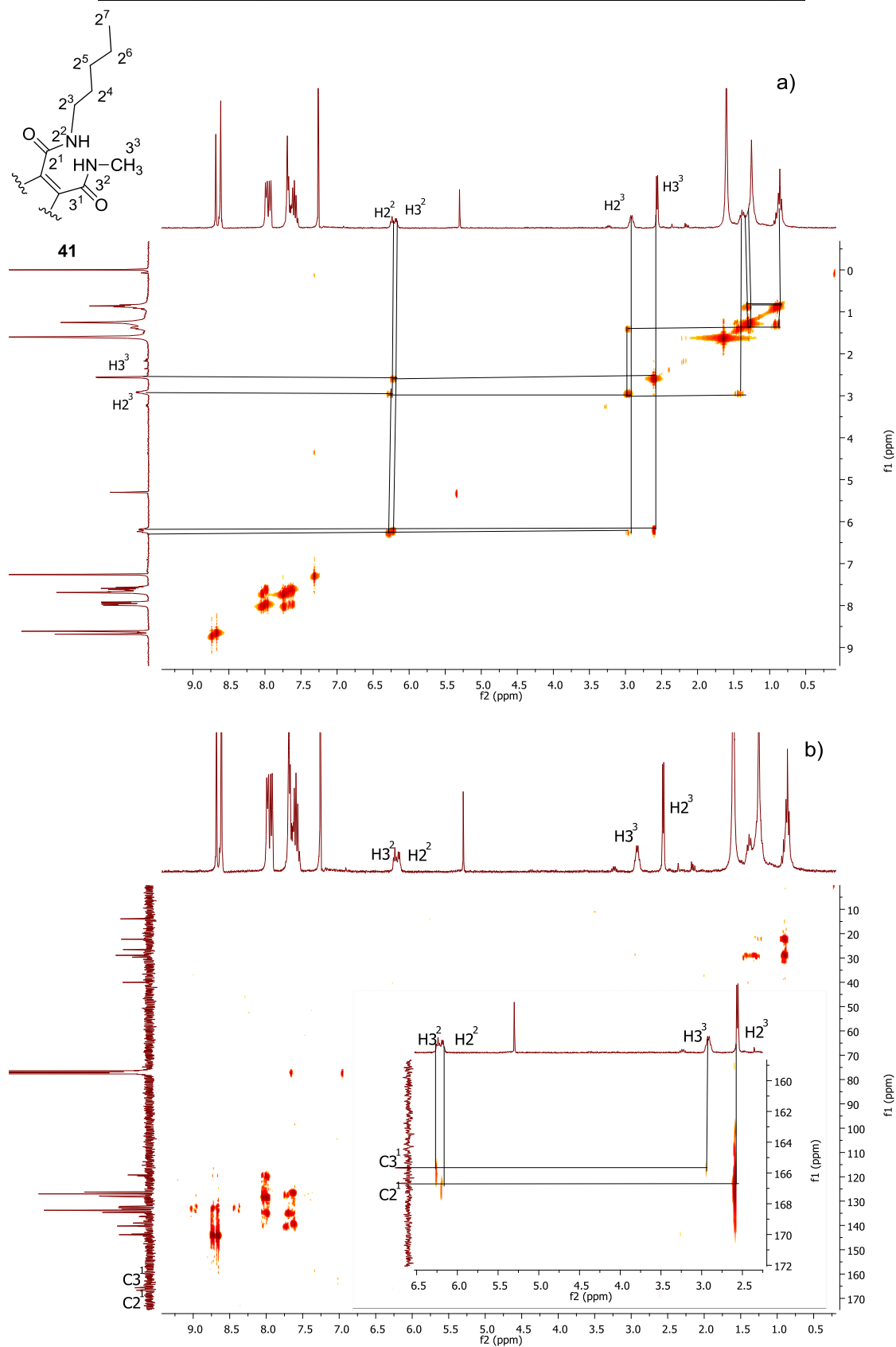


Figura 3.10. Espectros de a) COSY e b) HMBC do composto **41**.

1,3-Dioxopirroloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

Foi possível fazer a atribuição inequívoca de cada um dos carbonos carbonílicos, recorrendo ao espectro de HMBC (Fig. 3.10.), devido à correlação de C3¹ com H3² (²*J*) e H3³ (³*J*) e de C2¹ com H2² (²*J*) e H2³ (³*J*) (Fig. 3.10.).

Este composto foi obtido em rendimento quantitativo, o que tornou este tipo de reação bastante apelativa para futuras funcionalizações.

Seguindo a metodologia anterior, variou-se a amina de modo a melhor perceber se o processo era válido para aminas contendo diferentes grupos funcionais. Seguindo um procedimento análogo ao seguido para a pentilamina, fez-se reagir o 2-aminoetanol com a porfirimina **37**. Ao fim de uma hora verificou-se, por TLC, total consumo da imida de partida. Também neste caso se observou uma mudança gradual da cor do meio reacional de verde-escuro para vermelho vivo. A mistura reacional foi tratada de forma análoga à já descrita para a reação com a pentilamina e a análise dos dados espectroscópicos correspondentes ao novo derivado obtido foi efetuada seguindo o raciocínio seguido para o derivado anterior.

Observou-se, nos espectros de RMN, o mesmo padrão de sinais aos já descritos para a 2,3-dicarboxamida **41**, com exceção, obviamente, dos sinais correspondentes à ressonância de prótons e carbonos do grupo amida em posição 2. No que diz respeito a este grupo, observou-se no espectro de RMN de ¹H (Fig. P3.25. do procedimento experimental) três sinais: um multipeto a δ 3,06-3,13 ppm e um triplete a δ 3,56 ppm correspondentes à ressonância dos prótons H2³ e H2⁴ (Fig. 3.11.), respetivamente e um multipeto a δ 6,62-6,64 ppm correspondente à ressonância de H2² (Fig. 3.11.). No espectro de COSY foi possível observar a correlação entre H2² e H2³ e entre H2³ e H2⁴ (Fig. 3.11.).

Tal como no caso do composto **41**, o espectro de RMN ¹³C (Fig. P3.26. do procedimento experimental) apresentou dois sinais distintos correspondentes à ressonância de dois carbonos carbonílicos não equivalentes a δ 166,4 e 167,5 ppm (Fig. 3.11.).

Também o ião molecular [M+H]⁺ observado no espectro de massa a um valor de *m/z* 815 revelou uma total conformidade com a estrutura **42**, tendo este derivado sido obtido em rendimento quantitativo.

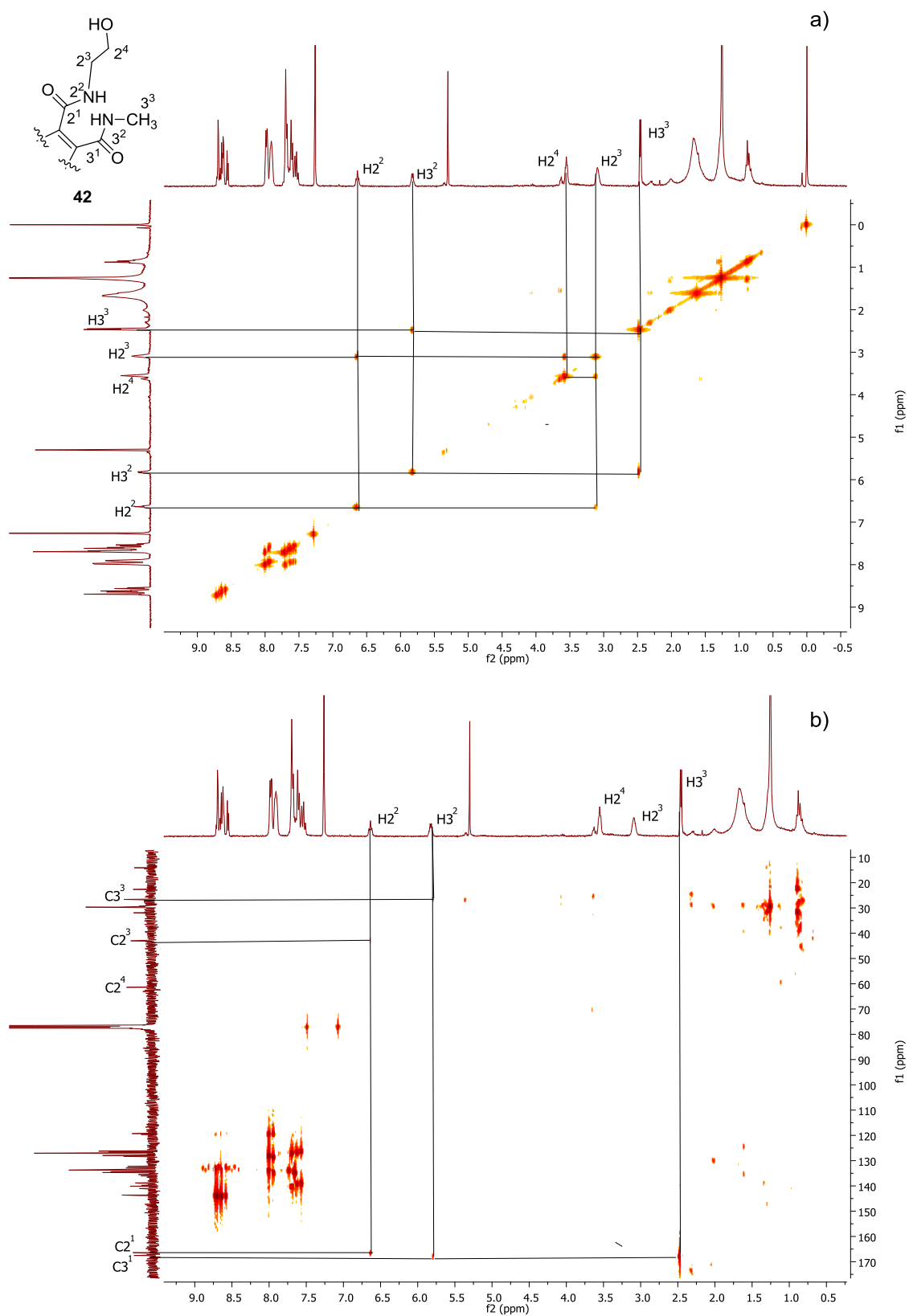
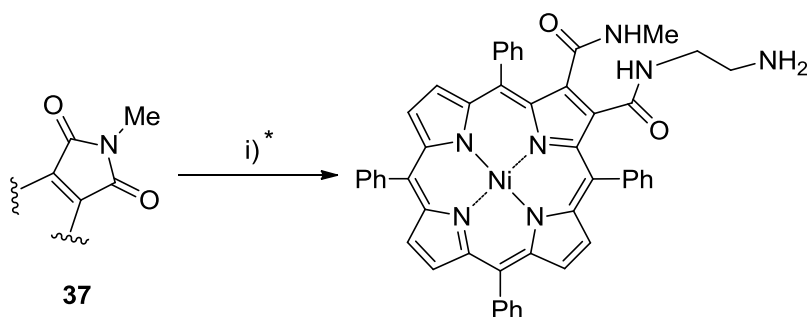


Figura 3.11. Espectros de a) COSY e b) HMBC do composto **42**.

1,3-Dioxopirrolloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

Tentou-se ainda a reação com a etano-1,2-diamina (esquema 3.31.). A reação foi completa ao fim 1 hora, tal como observado para as duas amins anteriormente descritas, contudo a TLC da mistura reacional mostrou a existência de um número enorme de compostos de cor vermelha diferentes. Apesar de não se observar nenhum composto que parecesse surgir em quantidade maioritária, várias tentativas de separação da mistura reacional foram levadas a cabo, porém sem êxito. Todos os compostos demonstraram ser bastante instáveis em sílica.



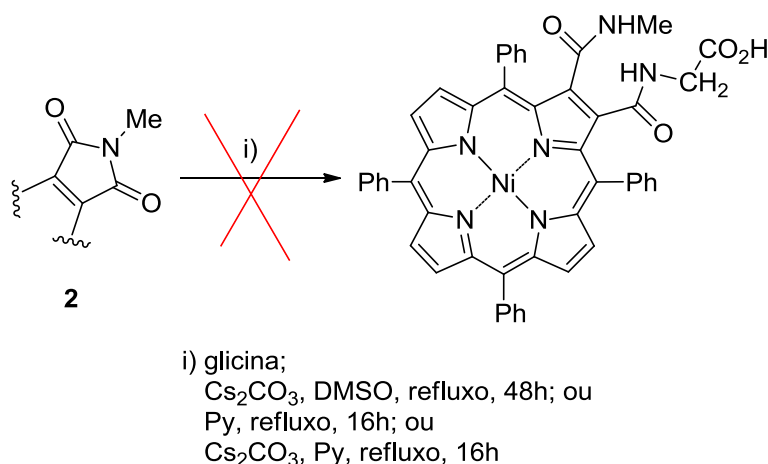
i) etano-1,2-diamina, tolueno, refluxo, 1h

* reacção inconclusiva devido à formação de vários produtos de separação inexequível

Esquema 3.31.

Colocou-se a hipótese de a reação ter ocorrido da mesma forma que as anteriores, todavia neste caso, estaria presente um grupo amino alifático primário livre. Este tipo de grupos protona com bastante facilidade e por isso poderíamos estar a observar na TLC preparativa, processos sucessivos de protonação/desprotonação e não propriamente compostos com diferentes estruturas. Numa tentativa de perceber a existência ou não deste fenómeno, a mistura reacional foi tratada com algumas gotas de TFA e foi registado o espectro de RMN de ¹H. Todavia, este espectro revelou um elevado grau de agregação. No espectro de massa da mistura reacional observaram-se inúmeros picos, mas nenhum correspondente ao ião molecular esperado. Como esta análise foi também inconclusiva, esta reação foi abandonada, devido à impossibilidade de isolar e/ou caracterizar o(s) composto(s) formados.

Foi ainda testada a reação da porfirina **37** com aminoácidos, nomeadamente a glicina (esquema 3.32.). Por questões de solubilidade, de ambos os reagentes, a reação foi conduzida em DMSO na ausência e na presença de base (Cs_2CO_3), elevando a temperatura sucessivamente até ao refluxo. Em nenhuma das condições testadas se observou a formação do novo composto pretendido. No entanto, após refluxo de **37** e glicina em DMSO na presença de Cs_2CO_3 , observou-se a formação de derivado **40** em quantidades vestigiais.



Esquema 3.32.

A formação do composto **40** poderá ter origem na ocorrência de hidrólise do precursor 1,3-dioxopirrólico, com formação de **39**, que devido às altas temperaturas praticadas, origina **40** por descarboxilação, como já anteriormente explicitado.

De particular interesse foi também a observação da formação de uma base de cor negra intensa nas TLC de controlo da mistura reacional. A intensificação desta base foi proporcional ao tempo em que a mistura reacional se encontrava em refluxo de DMSO. Após 48 h de reação, a manipulação do resíduo da mistura reacional tornou-se mesmo impraticável devido à formação de um sólido de cor negra apenas solúvel em misturas de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ com elevada proporção de MeOH. A TLC deste sólido revelou a presença de diversos produtos de R_f muito próximos, de separação inexecutável nas condições testadas (TLC preparativa e eluente $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, com quantidade de MeOH elevada de forma gradual até aos 50%).

1,3-Dioxopirrolporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

Uma vez que o uso de DMSO, como solvente da reação, conduziu a um elevado grau de degradação da porfirina de partida, e o tipo de solventes a ser usados estava bastante limitado pela insolubilidade da glicina na maior parte deles, testou-se a possibilidade de usar piridina como solvente, dadas as suas características básicas e o seu ponto de ebulição. No entanto, ao fim de 16 horas de reação não se observou qualquer tipo de reação, mesmo após a adição de um largo excesso de aminoácido (~30 eq). A adição de Cs_2CO_3 ao meio reacional não se traduziu também na formação de qualquer produto.

Numa tentativa de tentar perceber a falta de reatividade da glicina, testou-se ainda a reação com lisina, na esperança que fosse a proximidade do grupo carboxílico ao grupo amino a responsável pela ausência de reação. No entanto, mesmo após 16 horas de refluxo em piridina, não ocorreu qualquer tipo de reação. Decidiu-se, no âmbito deste trabalho, abandonar a anterior metodologia de obtenção de conjugados porfirina-aminoácido.

Antes de prosseguir o trabalho, as duas 2,3-dicarboxamidas obtidas foram também sujeitas ao tratamento ácido visando a descomplexação. Para isso, soluções de **41** e **42** em $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ 9:1, foram agitadas à temperatura ambiente durante 5 minutos. Ao fim deste tempo, não se observou por TLC a existência de qualquer composto de partida, tendo-se formado os novos produtos esperados. As misturas foram neutralizadas com uma solução aquosa saturada de Na_2CO_3 e extraídas com CH_2Cl_2 . Os produtos foram purificados por TLC preparativa.

As descomplexações foram confirmadas através dos respetivos espectro de massa de cada produto obtido, tendo-se observado os íões moleculares $[\text{M}+\text{H}]^+$ a valores de m/z 785 e 759, correspondentes aos compostos **41a** e **42a** (esquema 3.20), respetivamente. Também os espectros de RMN de ^1H (Fig. P3.28. e P3.30. do procedimento experimental) de cada um dos compostos confirmaram a transformação anterior, com o aparecimento dos sinais correspondentes à ressonância dos prótons NH internos dos macrociclos porfirínicos, a δ -2,76 e -2,92 ppm, relativos aos compostos **41a** e **42a**, respetivamente.

Tendo em conta os excelentes rendimentos obtidos nas reações entre a imida **37** e aminas alifáticas, decidiu-se estudar a possibilidade de ciclicizar as 2,3-dicarboxamidas obtidas e assim construir novas 1,3-DPP com diferente *N*-substituição.

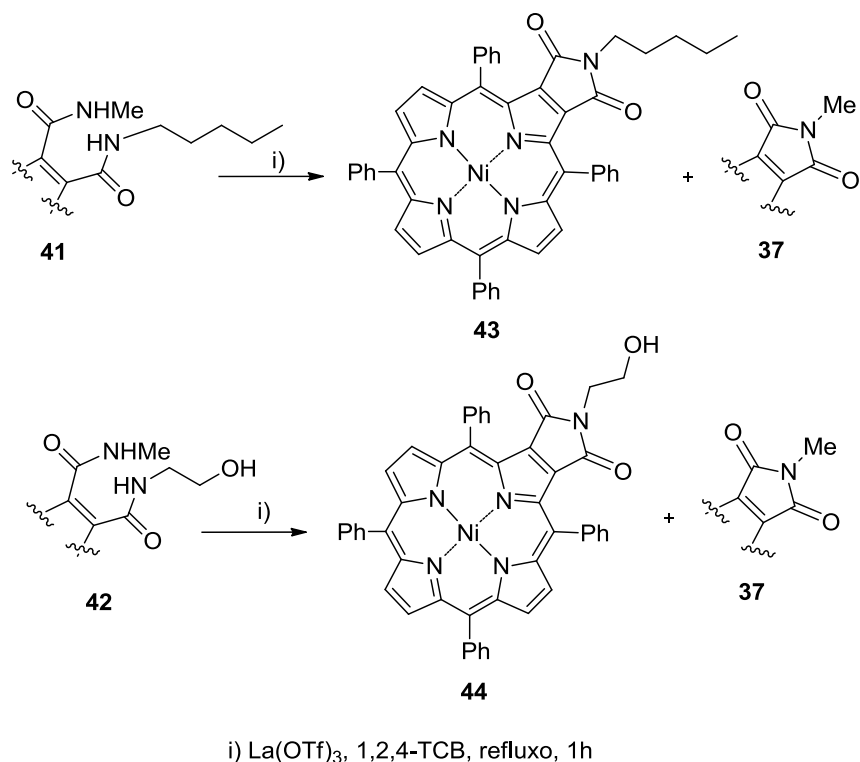
Numa primeira abordagem, começou-se por refluxar, em 1,2,4-TCB, a 2,3-dicarboxamida **41**. Ao fim de 72 h de refluxo observou-se, por TLC, que a maior parte do composto de partida permanecia intacto. No entanto, detetou-se a presença de duas manchas adicionais de cor verde intensa, com polaridade inferior ao precursor, que indicavam a formação das duas 1,3-DPP possíveis de se formarem nesta reação.

De facto, foi possível identificar, por TLC, o derivado **37** como sendo um dos produtos desta reação. Dada a pequena quantidade do outro composto verde obtido, não foi possível, nesta altura, proceder à sua caracterização. Contudo, esta primeira experiência permitiu perceber que o fecho do anel da 2,3-dicarboxamida **41** era possível e que a temperatura poderia não ser o fator determinante para a ocorrência da reação.

Seguindo esta linha de raciocínio, ponderou-se que a utilização de um catalisador ácido que pudesse favorecer o fecho do anel e talvez se apresentasse como uma estratégia mais eficaz para o sucesso da reação. Considerando que a utilização de um ácido de Brønsted poderia provocar efeitos indesejáveis (*e.g.* protonação do grupo amino e/ou hidrólise), impedindo que a reação ocorresse, optou-se por testar o efeito de um ácido de Lewis, como é o caso do $\text{La}(\text{TfO})_3$.⁴⁴

A escolha de um triflato de lantanídeo, face a outros ácidos de Lewis, é justificada devido à estabilidade destes catalisadores na presença de água, não sendo necessário, desta forma, um controlo exaustivo das condições reacionais.⁴⁴

Assim sendo, refluxou-se uma solução de porfirina **41** em 1,2,4-TCB, contendo $\text{La}(\text{TfO})_3$. Observou-se uma mudança gradual da cor da mistura reacional de vermelho-vivo para verde, indicando que o fecho dos anéis imida estava a ocorrer. Ao fim de uma hora, toda a 2,3-dicarboxamida havia sido consumida, tendo-se dado por terminada a reação por arrefecimento até à temperatura ambiente. Registou-se a formação de dois produtos em quantidades apreciáveis, contudo verificou-se a presença de uma base de cor castanho-escuro, na TLC de controlo no final da reação. Após cromatografia em coluna, foram isolados os derivados **7** (menos polar) (esquema 3.33.) e **2** (mais polar).



Esquema 3.33.

A estrutura do 1,3-DPP **43** foi confirmado através do seu espectro de massa, uma vez que se registou um pico de valor m/z 810, correspondente ao ião molecular $[M+H]^+$. No espectro de RMN de 1H (Fig. P3.32. do procedimento experimental), assinalaram-se os sinais correspondentes à ressonância dos prótons β -pirrólicos na forma de dois dupletos a δ 8,56 e 8,71 ppm e um singleto a δ 8,63 ppm, indicando o elevado grau de simetria da molécula. Foram também observados na zona alifática todos os sinais correspondentes à ressonância dos prótons alifáticos do grupo pentilo a δ 0,80-0,92 e 1,19-1,32 ppm.

Ao longo do decurso desta fase do trabalho foi possível cristalizar o derivado **43** a partir de uma mistura CH₂Cl₂/hexano, a partir da qual foram isolados cristais de tamanho considerável, cuja estrutura foi desvendada a partir de difração de raios-X de monocristal. A unidade assimétrica é composta por uma molécula unitária como apresentado na figura 3.12.

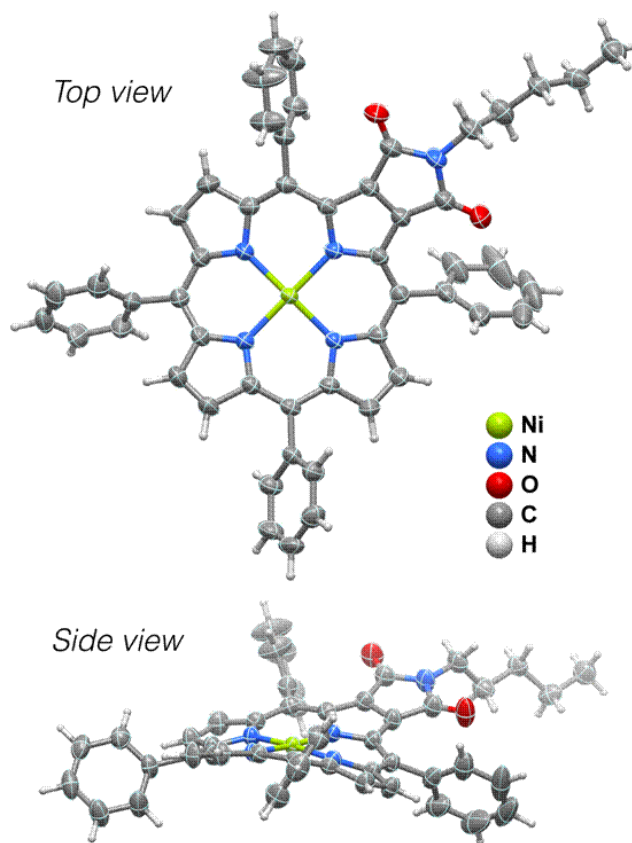


Figura 3.12. Representação esquemática de topo e lateral da molécula unitária do composto **7**. Todos os átomos, exceto hidrogénio, são representados como elipsoides térmicas colocadas a 80 % de probabilidade e os átomos de hidrogénio são representados como pequenas esferas com raio arbitrário. Para uma maior clareza, apenas uma localização da cadeia pentílica é representada.

Os dados cristalográficos mostram que o anel de porfirina se encontra significativamente distorcido. Esta distorção é atribuída à presença do grupo substituinte 1,3-dioxopirrolilo, que cria uma tensão estérea no anel porfirínico. Este tipo de característica estrutural (com diferentes graus de distorção) já foi observado noutras estruturas análogas,^{45,46} como revelado pela pesquisa efetuada na Cambridge Structural Database.⁴⁷ Contudo, apesar das distorções significativas no anel porfirínico, o catião central Ni^{2+} apresenta uma geometria de coordenação quadrada plana regular $\{\text{NiN}_4\}$.

O empacotamento do cristal foi essencialmente mediado pela necessidade efetiva de preencher o espaço livre (Fig. 3.13.). Naturalmente, o efeito combinado do elevado grau de

distorção do anel, conjugado com o impedimento estérico da cadeia alifática pendente, não permite a ocorrência de interações supramoleculares entre espécies vizinhas.

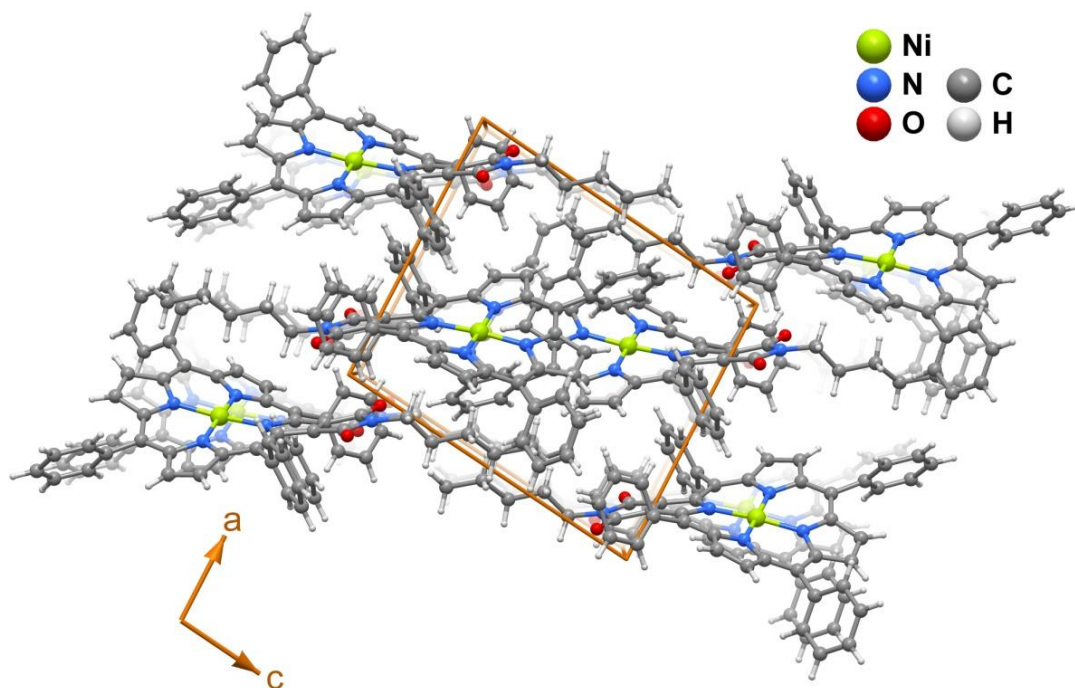


Figura 3.13. Representação esquemática do empacotamento do cristal do composto **43**, observado ao longo do eixo-*b* da célula unitária. Para simplificar, apenas uma posição cristalográfica da cadeia pentílica desordenada é representada.

Uma vez efetuada a caracterização da 1,3-DPP **43**, decidiu-se estender a reação à 2,3-dicarboxamida **42** (esquema 3.33.), seguindo um procedimento análogo ao descrito para o precursor **41**. Ao fim de 1 hora, verificou-se por TLC, que todo o composto de partida havia sido consumido com formação de dois novos compostos de cor verde. Por TLC, foi também possível verificar que o composto verde menos polar era a imida **37**, restando poucas dúvidas que o outro derivado teria a estrutura **44**.

O espectro de massa deste novo derivado estava em conformidade com a molécula idealizada, apresentando o íon molecular $[M]^{++}$ um valor de m/z 783.

Também o espectro de RMN de ^1H (Fig. P3.33. do procedimento experimental) mostrou inequivocamente a presença de um plano de simetria na molécula, devido à

multiplicidade dos sinais correspondentes à ressonância dos prótons β -pirrólicos: dois dupletos a δ 8,55 e 8,71 ppm e um singlete a δ 8,62 ppm. Observou-se também a presença dos sinais correspondentes à ressonância dos prótons de quatro prótons alifáticos a δ 3,71-3,79 ppm.

No espectro de RMN de ^{13}C (Fig. P3.34. do procedimento experimental) registou-se apenas um sinal correspondente à ressonância de um carbono carbonílico, deixando clara a atribuição da estrutura **44**, ao derivado obtido.

Análise dos espectros de UV-vis dos derivados sintetizados

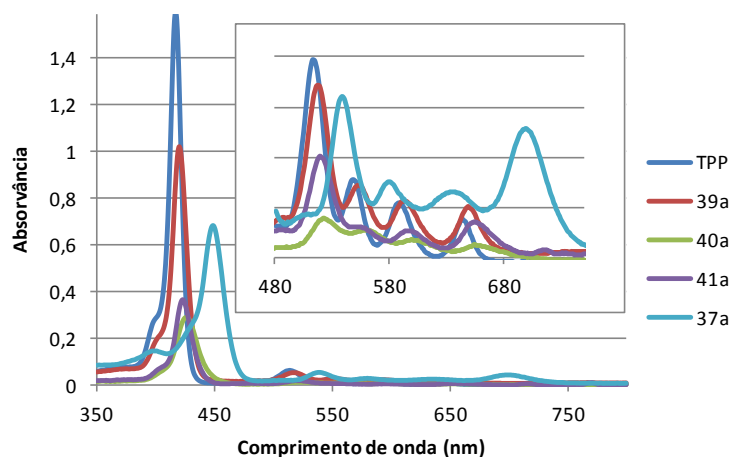
A observação de uma banda Q a 700 nm no espectro de UV-Vis da 1,3-DPP **37a**, levou-nos a considerar uma análise mais exaustiva dos espectros de todos os compostos sintetizados, de modo a melhor entender a origem de tão acentuado desvio para a região do vermelho. Como tal, começou por se fazer uma análise dos espectros de UV-Vis, dos derivados sintetizados **37a** e **39a-41a** (Fig. 3.14.), e cuja descomplexação foi já descrita atrás.

Compararam-se os resultados obtidos com a porfirina não substituída (**TPP**) de modo a melhor compreender os efeitos das diferentes substituições nas posições 2 e 3. Ainda de salientar que foram escolhidos os derivados que permitiram uma comparação estrutural sistemática.

Não foi possível fazer uma comparação direta entre os derivados não complexados e o respetivo precursor pirrólico, uma vez que este é instável em condições ácidas. Contudo, utilizaram-se dados existentes na literatura relativos a uma pirroloporfirina não complexada (Fig. 3.14.), sintetizada por outros autores.⁴⁸

Para todos os derivados sintetizados, escolheu-se a concentração 3 μM , considerada a mais adequada para a comparação pretendida.

De acordo com os dados presentes na figura 3.14., começou-se por analisar as diferenças entre a **TPP** e o derivado mono-substituído com um grupo amida **40a**. Observou-se um desvio para maiores λ , de 3-5 nm, de todas as bandas de absorção do composto **40a** relativamente à **TPP**.




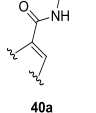
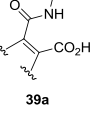
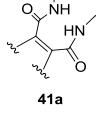
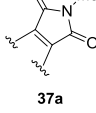
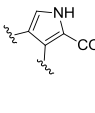
					
TPP	40a	39a	41a	37a	37a
417	420	428	423	449	440
514	518	523	520	539	482
549	554	560	554	579	526
589	593	603	597	635	606
644	649	656	655	700	662

Figura 3.14. Espectross de UV-vis e respetivos máximos de absorção de alguns derivados não complexados (3 μ M) em CHCl_3 , comparados com a referência **TPP**. A ordem pela qual os derivados surgem relaciona-se com o grau e tipo de substituição.

Também no caso do composto **39a** e do composto **41a**, se observam desvios para maiores λ relativamente à **TPP**, entre 5-14 nm. Estas diferenças parecem ter origem no efeito retirador de eletrões originado pela substituição nas posições 2 e 3. Este efeito é ligeiramente mais evidente no derivado **39a**, contendo um grupo carboxílico.

Todavia, o efeito mais notável foi observado para o composto **37a**, onde se chega a observar um desvio de cerca de 56 nm para a banda de absorção de menor energia. Este dado indicou-nos inequivocamente que os desvios para a região do vermelho não podem apenas ser justificados pela presença de grupos retiradores de eletrões. De facto, está bem estabelecido que a presença de grupos retiradores de eletrões nas posições β -pirrólicas do macrociclo promove uma contração da diferença HOMO- LUMO que se reflete em desvios para a região do vermelho das bandas de absorção.⁴⁹⁻⁵² No entanto, a distorção do

macrociclo conduz também a uma contração da diferença HOMO-LUMO e consequentemente enfatiza também esses desvios batocrômicos.⁴⁹⁻⁵²

Com base nas observações dos espectros de UV-Vis dos derivados não complexados podemos afirmar que a distorção provocada pela presença da unidade dioxopirrólica, apesar de não ser a única variável influente, é preponderante na obtenção de bandas de absorção a λ muito mais elevados que as bandas correspondentes da **TPP**. É ainda interessante notar que mesmo comparando as bandas máximas de absorção da 1,3-DPP **2a** e da única pirroloporfirina não complexada reportada na literatura⁴⁸, as diferenças são demarcadas e significativas, chegando mesmo a registrar-se um desvio de 38 nm para a banda Q de menor energia.

É interessante referir que estas diferenças tão acentuadas não foram registradas para os correspondentes macrociclos complexados **1** e **37-43** (Fig. 3.15.).

Os espectros dos compostos obtidos **1** e **37-43** foram medidos a uma concentração de 5 μ M (Fig. 3.15.).

Observando as diferenças registradas entre a **Ni-TPP** e o derivado monossubstituído **40**, verificou-se uma pequena diferença de 3-6 nm, nos máximos de absorção da amida **40**.

No entanto, ao analisar a influência da 2,3-dissubstituição, o efeito foi mais pronunciado quando comparado com a referência **Ni-TPP**, com desvios de 6-12 nm para os compostos **39** e **41**. Ainda de referir que se observou o aparecimento de uma segunda banda Q larga, mas de menor intensidade, a 573 e 570 nm para os compostos **39** e **41**, respetivamente. Foi também interessante notar que os mesmos derivados apresentaram entre si uma diferença de exatamente 3 nm em todas as bandas, sendo o espectro do derivado **39**, que contém um grupo carboxílico com um efeito retirador de elétrons superior ao do grupo amida, o que está desviado para maiores λ .

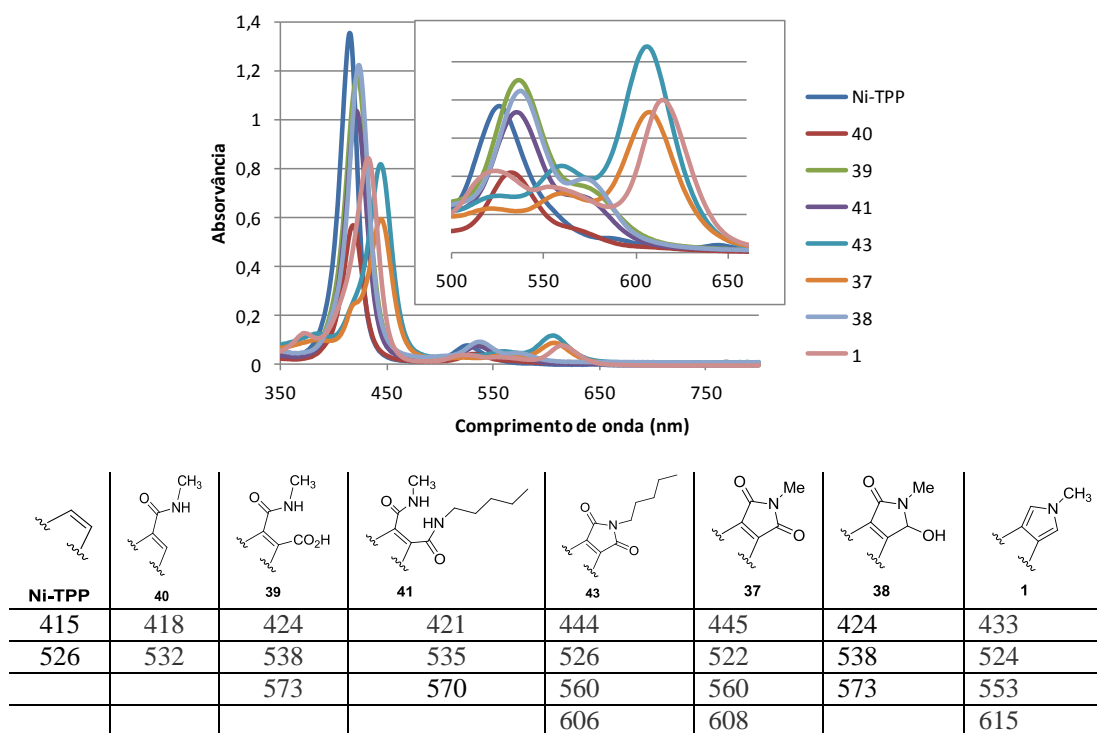


Figura 3.15. Espectros de UV-vis e respectivos máximos de absorção de alguns dos complexos de Ni sintetizados (5 μ M) em CHCl_3 , comparados com as referência **Ni-TPP** e precursor **1**. A ordem pela qual os derivados surgem na referência relaciona-se com o grau e tipo de substituição.

Contudo, ao comparar o efeito da dissustituição-2,3 do precursor **41**, que contém dois grupos amida, com os compostos **43** e **37**, ambos contendo um grupo imida, os efeitos observados foram mais marcados.

Uma vez que as diferenças entre os compostos **43** e **37** não são acentuadas, optou-se por fazer a discussão e comparação apenas entre as porfirinas **37** e **41**.

No caso da banda Soret verificou-se uma diferença de 24 nm, sendo o composto **37** o que apresenta o desvio desta banda para maiores λ relativamente à porfirina **41**. Para as bandas Q observou-se um efeito bastante interessante; o derivado **41** apresentou duas bandas, a 535 nm e a 570 nm; o derivado **41** apresentou duas bandas largas de baixa intensidade a 522 e 560 nm e uma banda de intensidade elevada a 608 nm. Registou-se um desvio para maiores λ da última banda de absorção, de 38 nm.

Tornou-se também pertinente comparar as diferenças assinaladas no espectro de UV-vis dos precursores **38** e **1**. No caso do intermediário **38**, o seu espectro de absorção foi

bastante semelhante ao já descrito para o derivado **41**. Em relação à pirroloporfirina **1**, observou-se uma grande semelhança do seu espectro UV-Vis com o já relatado para a 1,3-DPP **37**; duas das bandas Q do precursor **1** apresentaram mesmo um maior desvio para a região do vermelho em comparação com as bandas análogas da porfirina **37**. Estes resultados levaram-nos a considerar dois efeitos; o composto **37** deverá estar sujeito a efeitos eletrônicos resultantes da presença de um grupo retirador de elétrons, bem como da distorção provocada no anel por esse mesmo grupo, e o composto **1** deverá estar principalmente exposto a fatores eletrônicos proporcionados pela extensão do sistema π da molécula.

Em suma, o efeito do desvio observado nas bandas de absorção de derivados não complexados do tipo 1,3-DPP, em particular da obtenção de uma banda a 700 nm, deverá ser uma conjunção de dois fatores principais. Por um lado é significativo o efeito retirador eletrônico dos grupos substituintes. Contudo, a influência da distorção do anel porfirínico provocada pela presença do anel imida é preponderante para que grandes desvios para a região do vermelho ocorram, fenómeno já reportado na literatura para outros grupos funcionais.^{53,54} Mais ainda, o efeito da distorção no espectro de UV-Vis surge mais pronunciado nas 1,3-DPP não complexadas, uma vez que a presença de um metal, neste caso do níquel (II), torna essa mesma distorção menos proeminente.

3.1.5.1. Procedimentos Experimentais

Reagentes, solventes e equipamento

Os reagentes comerciais utilizados não foram sujeitos a qualquer purificação prévia, dado o seu elevado grau de pureza.

Os solventes usados em reações e caracterizações não foram, em geral, sujeitos a purificação prévia. O tolueno foi seco em fio de sódio.

Os solventes usados nas purificações forem previamente destilados.

A evolução das reações foi sempre feita recorrendo a folhas plásticas de TLC revestidas de sílica gel 60 da Merck.

As purificações por cromatografia em coluna foram efetuadas em sílica gel de 0,063-0,200 mm da Merck ou sílica 0,032-0,063 mm, da Riedel-de-Haen. As purificações por cromatografia em camada fina preparativa foram efetuadas em placas de vidro (20 x 20 cm) revestidas com sílica gel 69 com uma espessura de 0,5 mm, previamente ativadas a 100 °C durante 12 horas numa estufa.

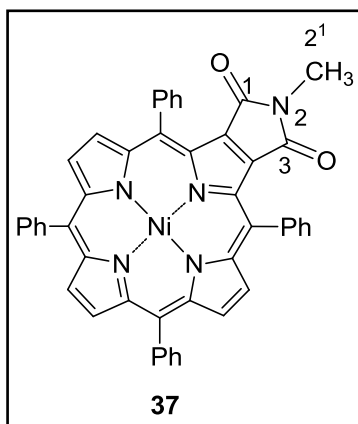
Os espectros de massa de alta resolução ESI⁺ foram realizados na Universidade de Vigo num espectrofotómetro VG Autospec M.

Os espectros de RMN de ¹H foram registados em aparelhos Bruker Avance 300 ou 500 a operar a 300,13 ou 500,13 MHz, respetivamente. Os espectros de RMN de ¹³C adquiridos nos mesmos aparelhos mas a operar a 75,47 ou 125,76 MHz, respetivamente. O padrão interno usado foi o TMS ($\delta = 0$ ppm). Os solventes deuterados usados foram o CDCl₃ ou o DMSO-d₆.

Os espectros de UV-vis foram adquiridos num espectrofotómetro Uvikon-922 usando células de vidro de 1 cm.

A fonte de irradiação utilizada foi um projetor de luz branca de 500 W (lâmpada de halogéneo de 500 W) com uma potência de 350 W.m⁻² medida com um potenciómetro Coherent modelo FieldMaxII-TOP.

Síntese da 1,3-DPP 37



A uma solução de pirroloporfirina **1** (20,0 mg; 27,7 μmol) em *o*-DCB (2 mL) foi adicionada TPP (5,0 mg, 8,1 μmol). A mistura, mantida em agitação à t.a., foi irradiada durante 1,5 horas, com uma lâmpada de luz branca de 500 W a uma potência de 350 W.m⁻². Ao fim deste tempo observou-se uma mudança de cor de verde escuro para vermelho, tendo-se verificado por TLC que todo o material de partida havia sido consumido. Foi adicionada DDQ (6,8 mg; 30,1 μmol ; 1,1 eq) e a mistura reacional foi refluxada durante 30 minutos. Ao fim deste tempo a mistura reacional apresentou cor verde característica da 1,3-DPP **37**. Após arrefecimento da mistura reacional até à temperatura ambiente, o produto **37** foi isolado recorrendo a cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando, pela seguinte ordem, os eluentes: éter de petróleo (para remover *o*-DCB) e CH₂Cl₂. Foram recolhidas duas frações: a primeira correspondente à TPP (recuperada na totalidade) e a segunda correspondente ao composto **37**. O produto foi cristalizado em CH₂Cl₂/ MeOH e obtido na forma de sólido verde escuro (14,6 mg; 70%).

37: RMN de ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 3,03 (s, 3H, H₂₁); 7,65-7,72 (m, 10H, Ph-H); 7,80 (t, 2H, *J*= 7,5 Hz); 7,85-7,89 (m, 4H, Ph-H); 7,92-7,94 (m, 4H, Ph-H); 8,56 (d, 2H, β -H, *J*=5,1 Hz); 8,63 (s, 2H, β -H); 8,73 (d, 2H, β -H, *J*=5,1 Hz); **RMN de ¹³C** (125 MHz, CDCl₃): δ 24,6 (C²¹); 119,0 (C-*meso*); 121,0 (C-*meso*); 127,2, 127,3, 128,1 e 128,6 (Ph-C); 132,7 (β -C); 132,8; 133,2 e 133,6 (Ph-C); 133,8 e 134,6 (β -C); 139,6; 140,2; 140,6; 143,7; 144,6; 145,9; 163,0 (C1 e C3); **HRMS (ESI):** m/z = 753,1672 (calcd. [M]⁺ 753,1669); **UV-vis** (CHCl₃) λ_{max} (log ϵ) 445 (5,04); 522 (3,69); 560 (3,82); 608 (4,20).

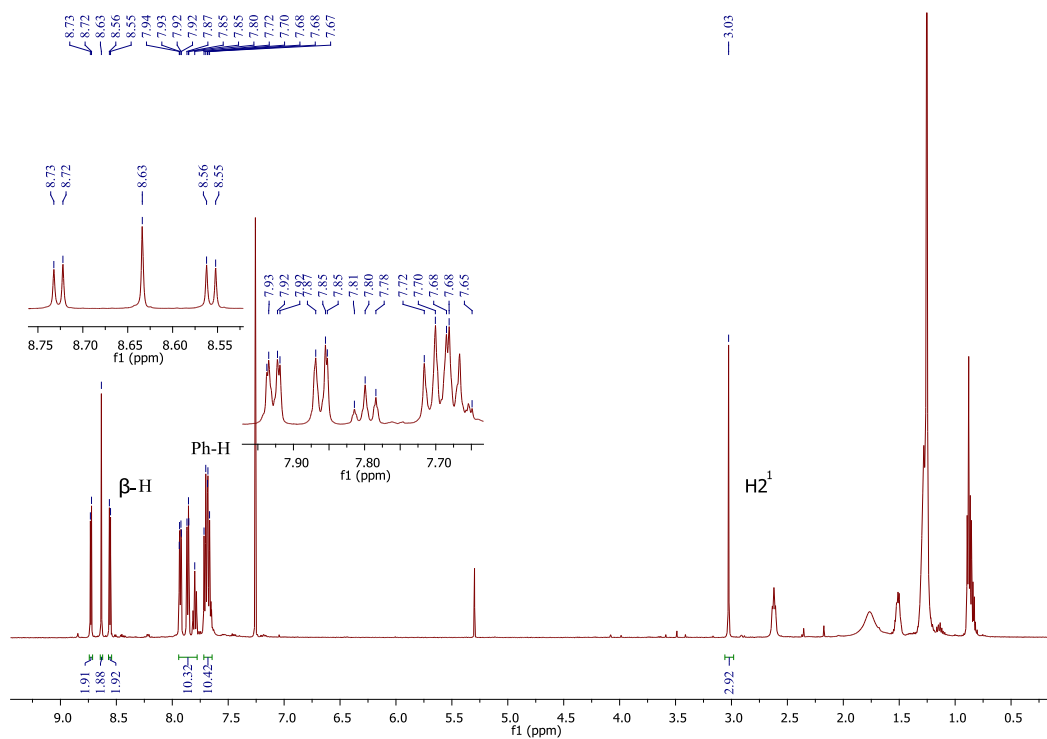


Figura P3.1. Espectro de RMN de ¹H do composto **37**.

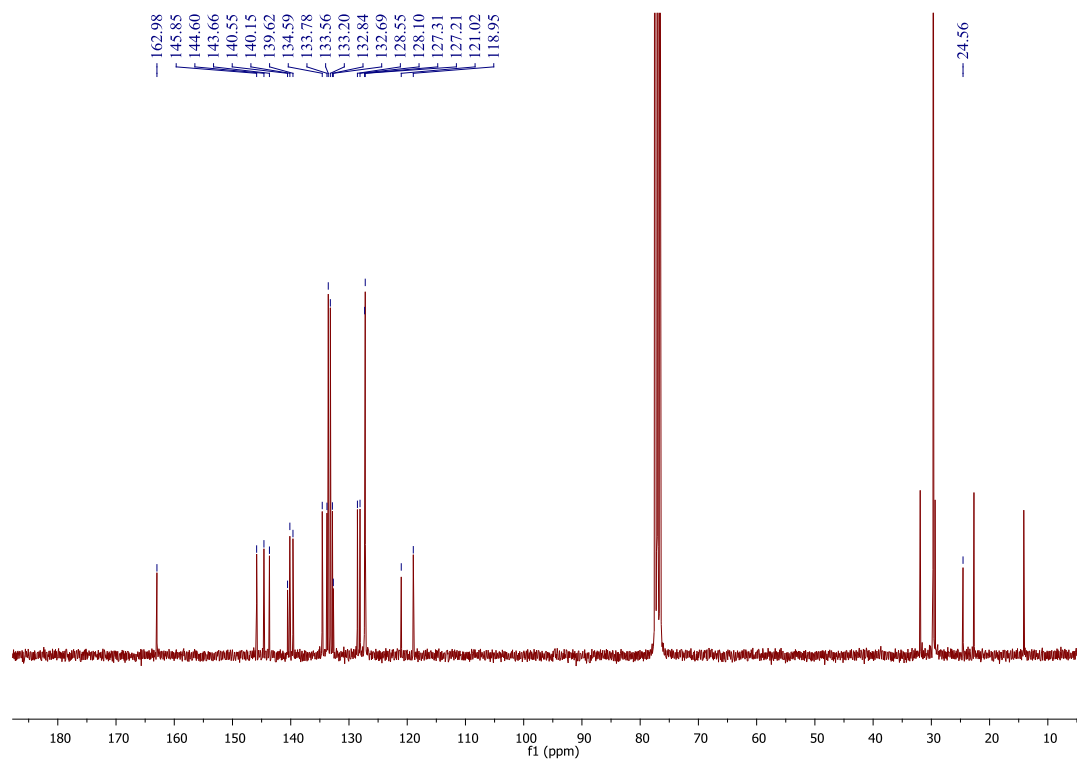


Figura P3.2. Espectro de RMN de ¹³C do composto **37**.

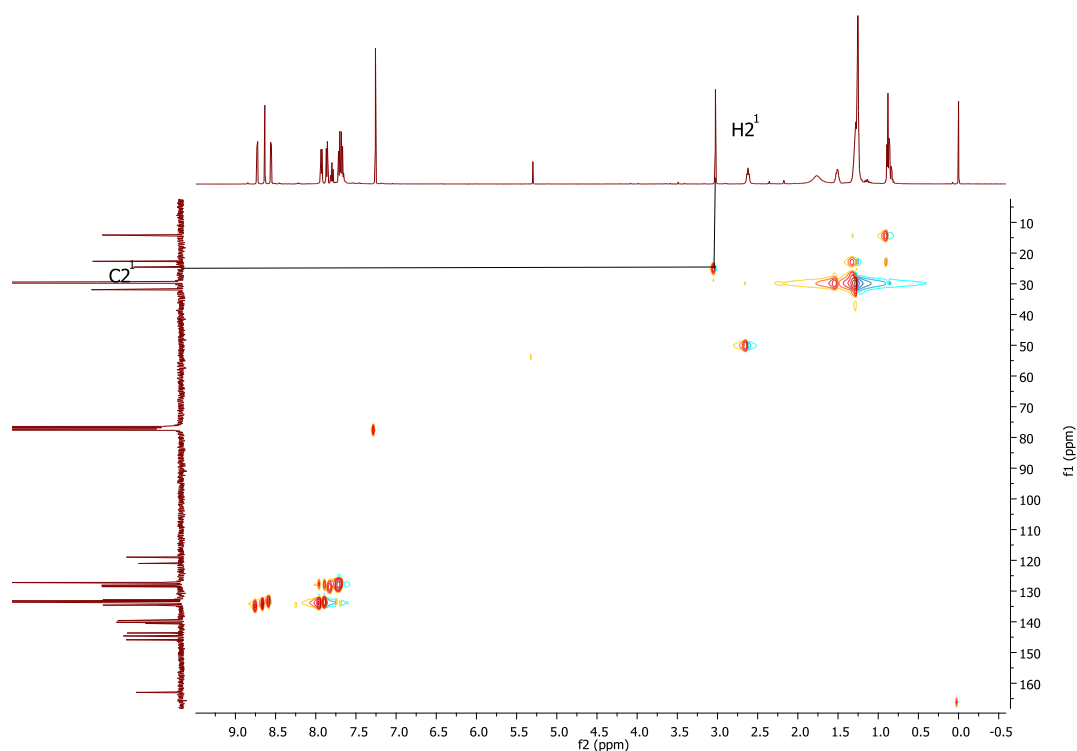
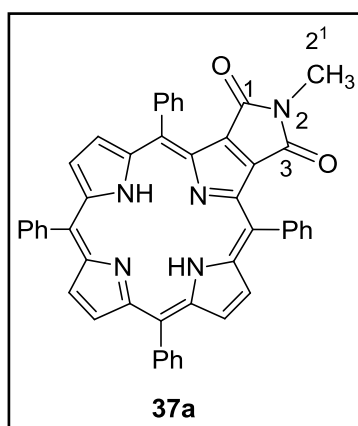


Figura P3.3. Espectro de HSQC do composto **37**.

Síntese da 1,3-DPP **37a**



Uma solução de composto **37** (10,0 mg) em $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (9:1) (1 mL), foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO_3 , extraída com CH_2Cl_2 e seca em Na_2SO_4 anidro. O solvente foi evaporado até à secura e o produto **37a** foi cristalizado em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EP}$, tendo sido obtido quantitativamente.

37a: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): -2,15 (s, 2H, NH); 3,05 (s, 3H, H_2^1); 7,72-7,83 (m, 10H, Ph-H); 7,88-7,94 (m, 2H, Ph-H); 8,14-8,18 (m, 8H, Ph-H); 8,67 (s, 2H, β -H); 8,79 (d, 2H, β -H, $J=5,1$ Hz); 8,88 (d, 2H, β -H, $J=5,1$ Hz); **RMN de ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3): δ 24,5 (C_2^1); 120,2 (C-meso); 122,8 (C-meso); 127,0; 127,3; 128,0; 128,6; 134,6; 134,7; 141,2; 142,0; 163,6 (C1e C3); **HRMS (ESI):** m/z = 698,2533 (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+$ 698,2551); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 449 (5,36), 539 (4,19), 579 (3,86), 635 (3,81), 700 (4,10).

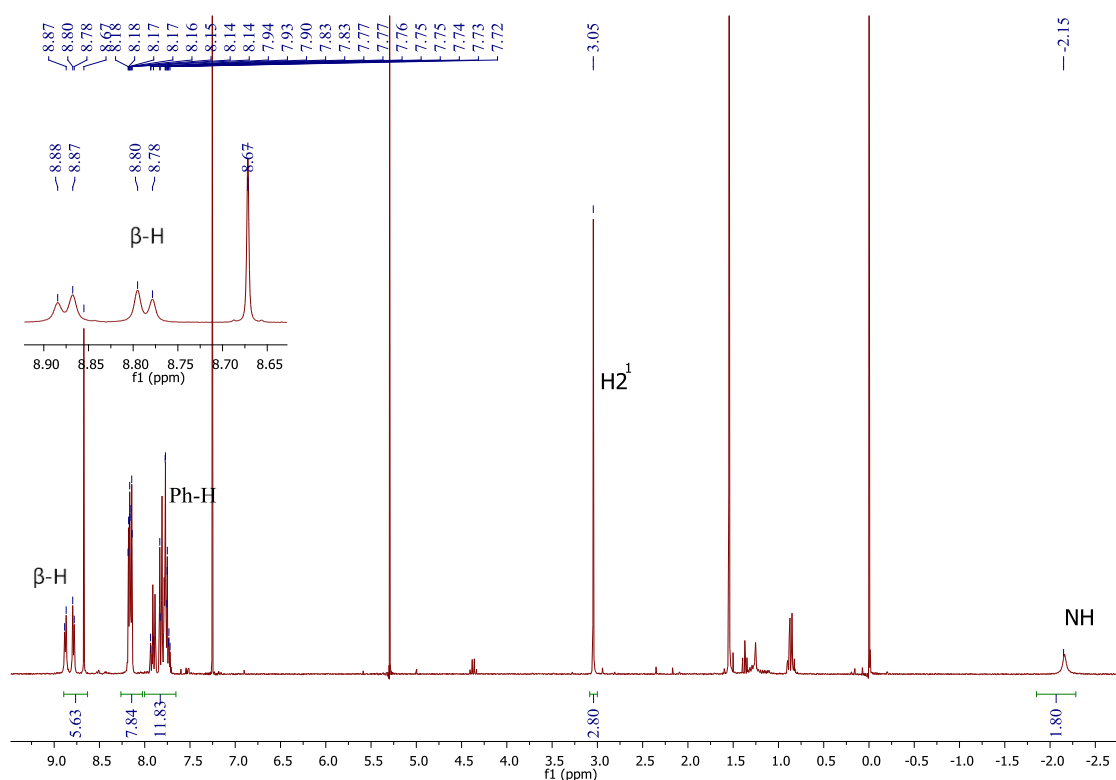


Figura P3.4. Espectro de RMN de ^1H do composto **37a**.

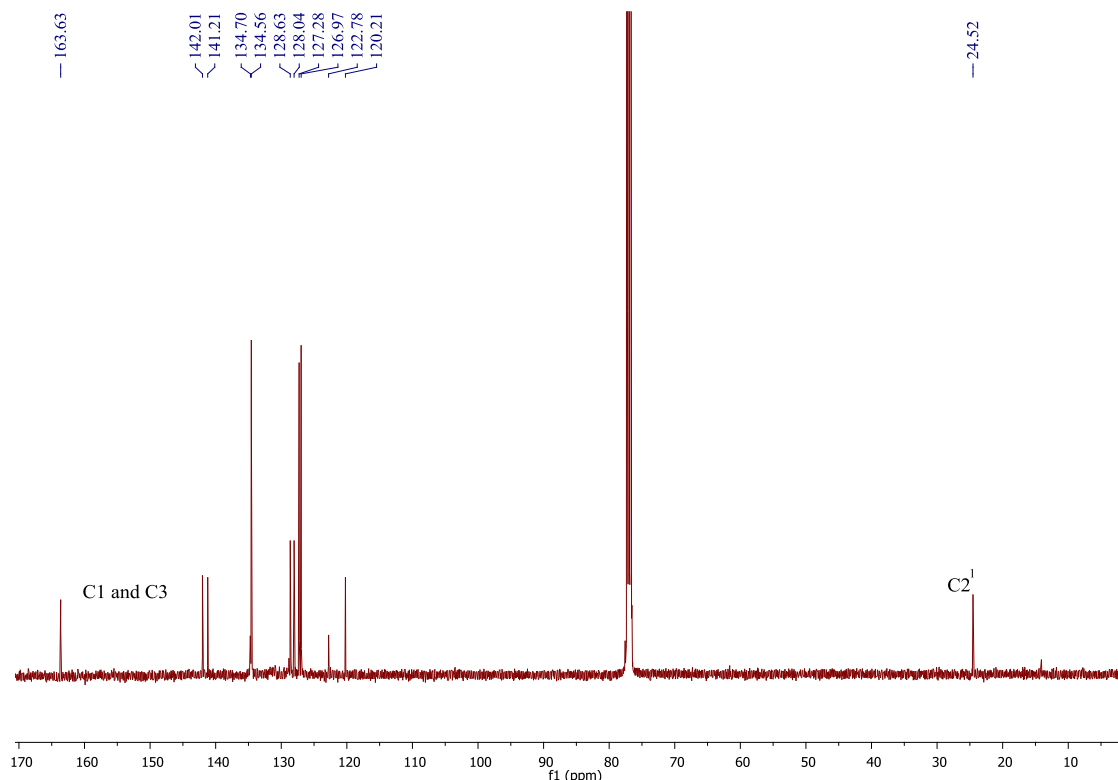
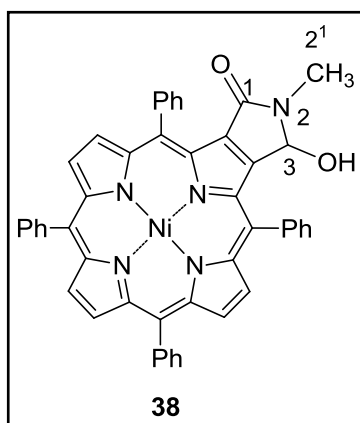


Figura P3.5. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **37a**.

Síntese do composto 38



A uma solução de pirroloporfirina **1** (10,0 mg; 13,8 μmol) em *o*-DCB (1 mL) foi adicionada TPP (2,5 mg; 4,1 μmol). A mistura, mantida em agitação à temperatura ambiente, foi irradiada durante 1.5 h. Ao fim deste tempo observa-se uma mudança de cor de verde escuro para vermelho, tendo-se verificado por TLC que todo o material de partida havia sido consumido. A mistura reacional foi separada recorrendo a cromatografia TLC preparativa em sílica gel, utilizando, pela

seguinte ordem, os eluentes: EP, CH_2Cl_2 e $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (97:3). Foram isoladas três frações: a primeira fração foi TPP (recuperada na totalidade), a segunda fração foi 1,3-DPP **37** (1,6 mg, 15%) e a terceira foi o derivado **38** (3,6 mg; 35%). O produto **38** foi cristalizado em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ e obtido na forma de sólido vermelho escuro.

38: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 3,03 (s, 3H, H_2^1); 5,76 (d, 1H, H_3 , $J = 5,0$ Hz); 7,65-7,98 (m, 20H, Ph-H); 8,66 (d, 1H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,1$ Hz); 8,69 e 8,71 (sistema AB, 2H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,0$ Hz); 8,70 (m, 2H, $\beta\text{-H}$); 8,77 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H, $\beta\text{-H}$); **RMN de ^1H** (300 MHz; $\text{CDCl}_3/\text{D}_2\text{O}$): δ 3,03 (s, 3H, H_2^1); 5,75 (s, 1H, H_3); 7,65-7,98 (m, 20H, Ph-H); 8,66 (d, 1H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,0$ Hz); 8,68-8,72 (m, 4H, $\beta\text{-H}$); 8,77 (d, 1H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,0$ Hz); **RMN de ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3): δ 27,1 (C_2^1); 81,2 (C_3); 118,1 (C-meso); 119,1 (C-meso); 119,3 (C-meso); 120,0 (C-meso); 126,8; 127,0; 128,0; 128,3; 129,1; 132,4; 132,6; 132,7; 132,8; 133,05; 133,09; 133,4; 133,60; 133,63; 133,8; 140,1; 140,2; 140,4; 140,6; 142,4; 143,3; 143,4; 143,70; 143,74; 143,8; 155,6; 158,4; 162,4 (C_1); **HRMS** (ESI): $m/z = 756,1907$ (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+ 756,1904$); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 424 (5,39), 538 (4,24), 573 (3,92).

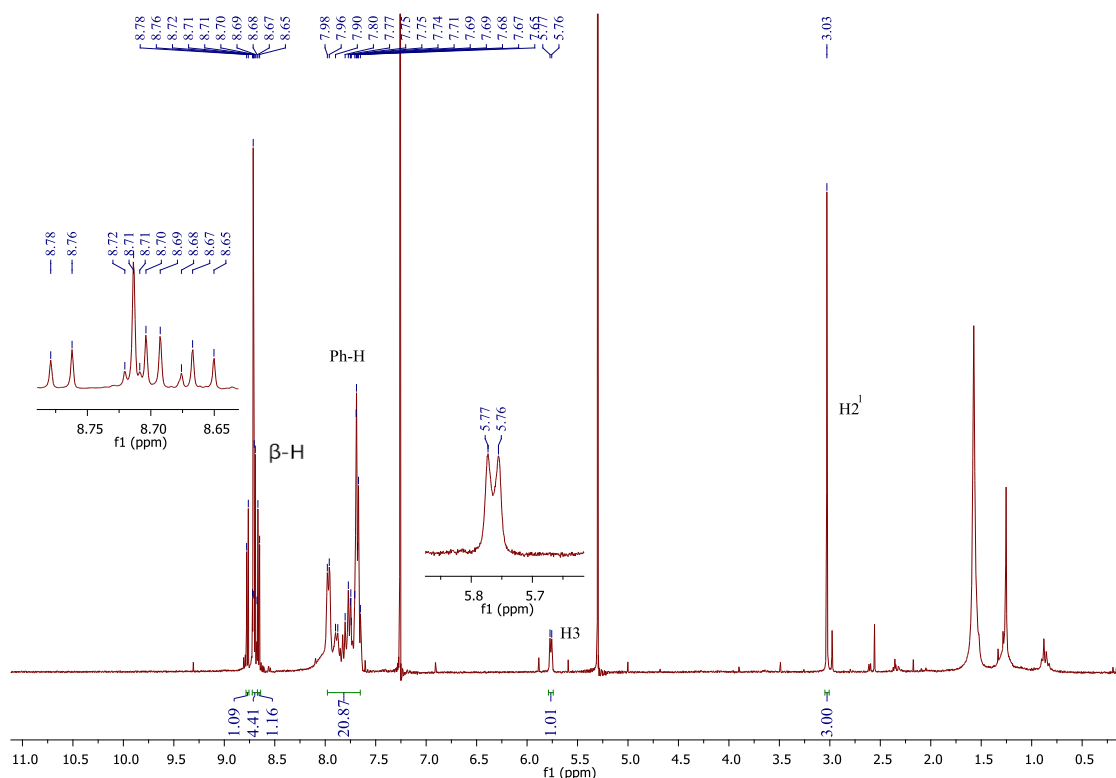


Figura P3.6. Espectro de RMN de ^1H do composto **38**.

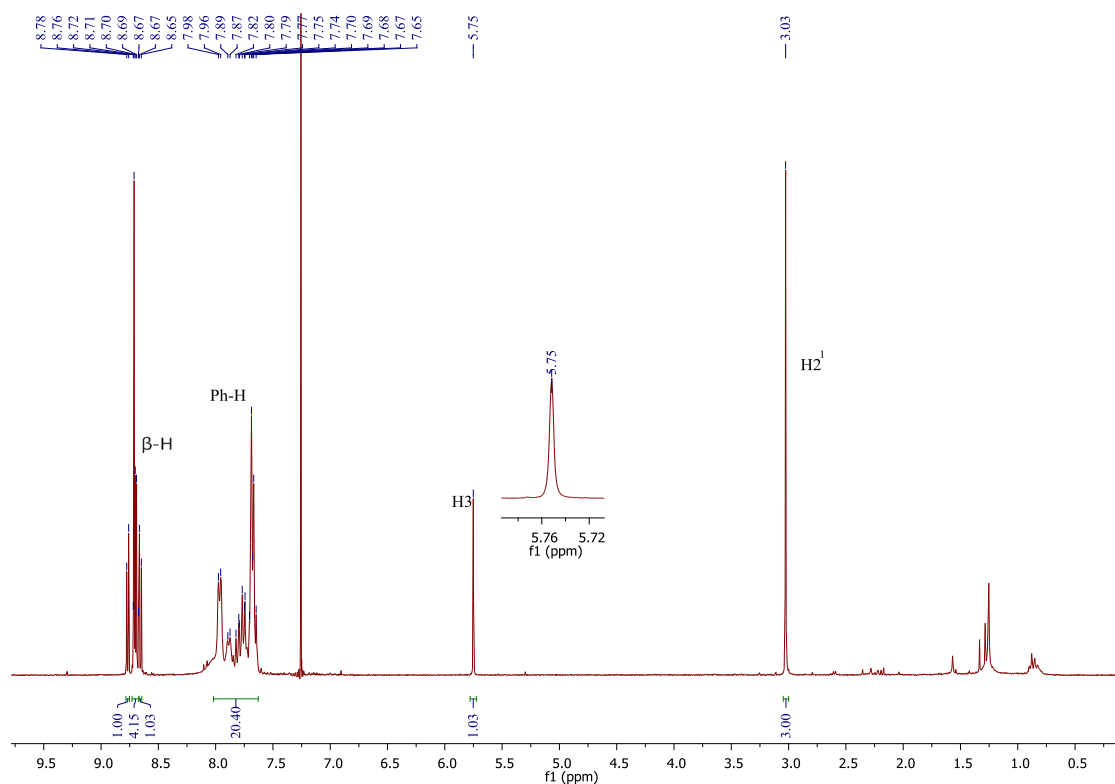


Figura P3.7. Espectro de RMN de ^1H do composto **38** em $\text{CDCl}_3/\text{D}_2\text{O}$.

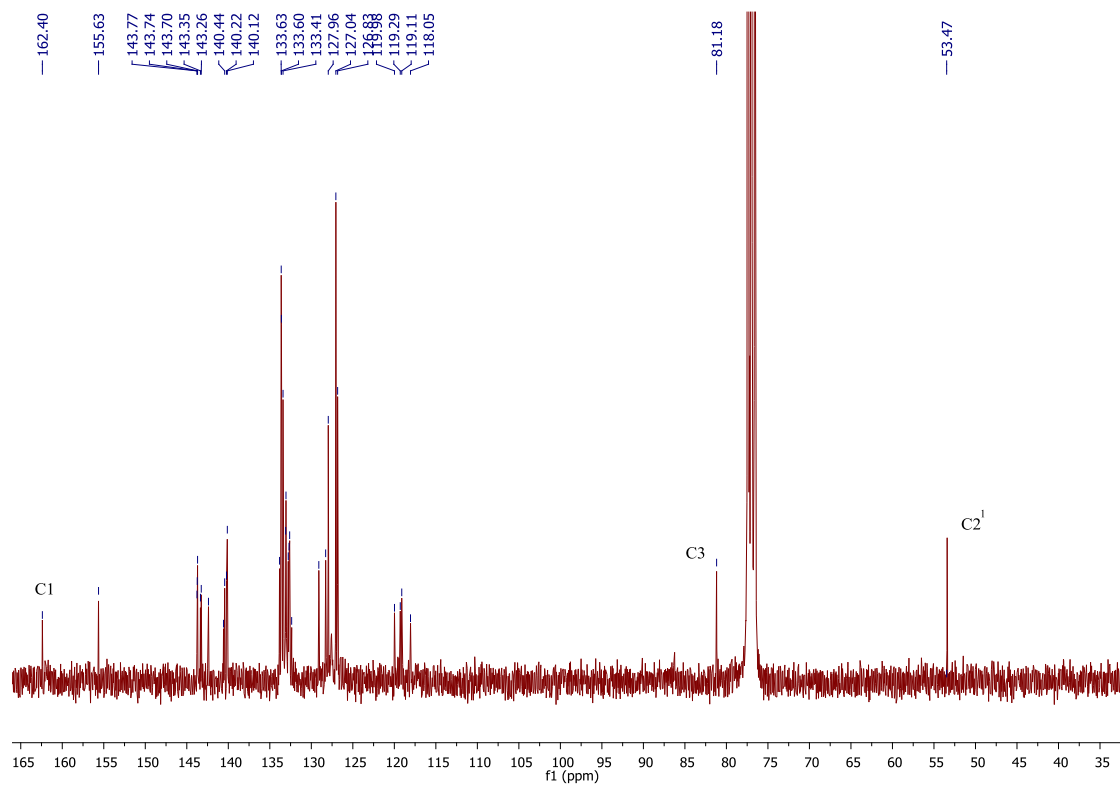


Figura P3.8. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **38**.

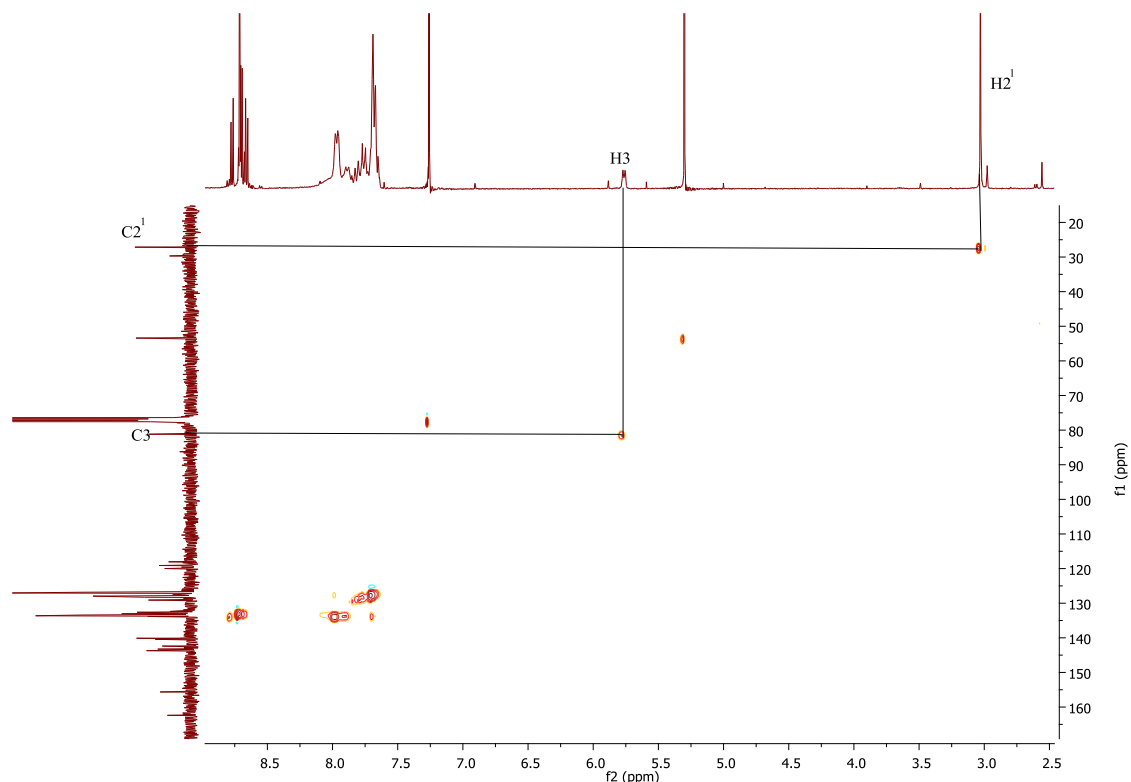
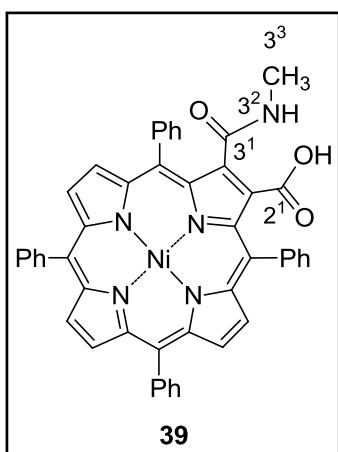


Figura P3.9. Espectro de HSQC do composto **38**.

Síntese do complexo de níquel do ácido 5,10,15,20-tetrafenil3-(metilcarbamoil)porfirina-2-carboxílico **39**



A uma solução de 1,3-DPP **37** (58,1 mg; 77,1 μmol) em propan-2-ol (20 mL) foi adicionado KOH (330,0 mg; 5,9 mmol). A mistura reacional foi agitada, à temperatura ambiente, durante 15 minutos. Após este tempo observou-se uma alteração de cor de verde para vermelho, e não tendo sido detetado material de partida, em TLC. A mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa de ácido cítrico e extraída com CH_2Cl_2 . Após evaporação do solvente, a pressão reduzida, a mistura foi cromatografada numa coluna de sílica

usando $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9:1 como eluente. A fração maioritária foi isolada e identificada como sendo o ácido carboxílico **39**. O produto foi precipitado em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EP}$, tendo sido obtido na forma de um sólido vermelho escuro (50,1 mg; 84%).

39: RMN de ^1H (300 MHz; DMSO- d_6): δ 2,29 (d, 3H, H_3^3 , $J = 4,7$ Hz); 7,47-7,58 (m, 6H, Ph-H); 7,73-7,76 (m, 6H, Ph-H); 7,83-7,85 (m, 4H, Ph-H); 7,99-8,01 (m, 4H, Ph-H); 8,45 (d, 1H, β -H, $J = 5,1$ Hz); 8,50 (d, 1H, β -H, $J = 5,1$ Hz); 8,56-8,58 (m, 2H, β -H); 8,64 (sistema AB, 2H, β -H, $J = 5,3$ Hz); RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6): δ 25,9 (C_3^3); 118,8 (C-meso); 118,9 (C-meso); 119,2 (C-meso); 126,1; 126,2; 127,4; 127,8; 128,0; 128,3; 130,7; 132,2; 133,3; 133,5; 134,3; 134,5; 138,5; 139,5; 142,1; 142,2; 143,2; 162,0 (C_2^1); 165,2 (C_3^1); HRMS (ESI): $m/z = 771,1776$ (calcd. $[\text{M}]^{+*}$ 771,1775); UV-vis (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 424 (5,37); 538 (4,26); 573 (3,89).

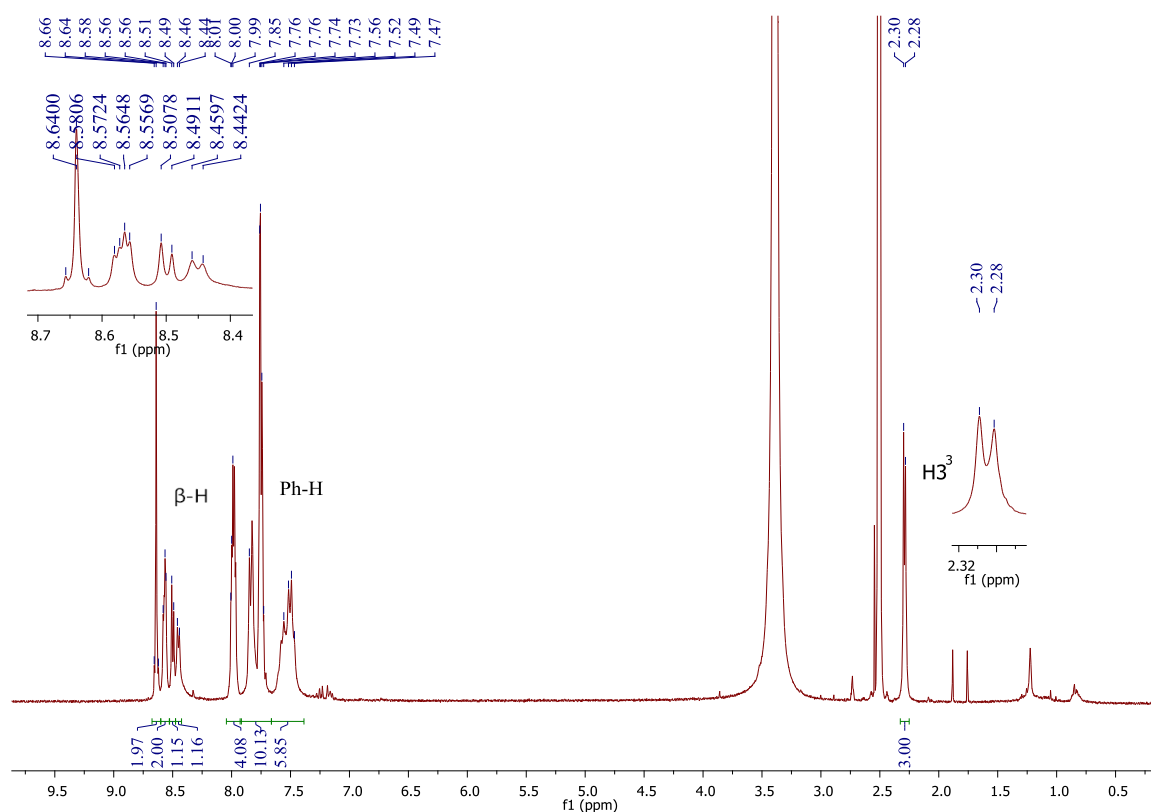


Figura P3.10. Espectro de RMN de ^1H do composto **39**.

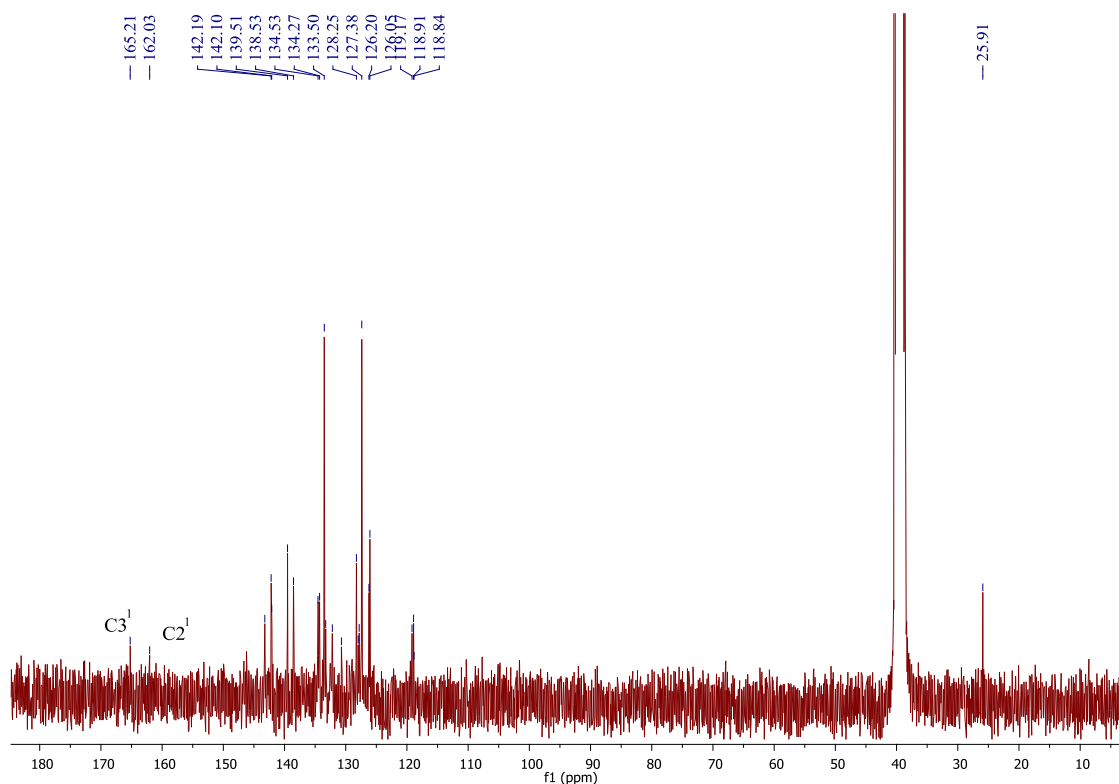


Figura P3.11. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **39**.

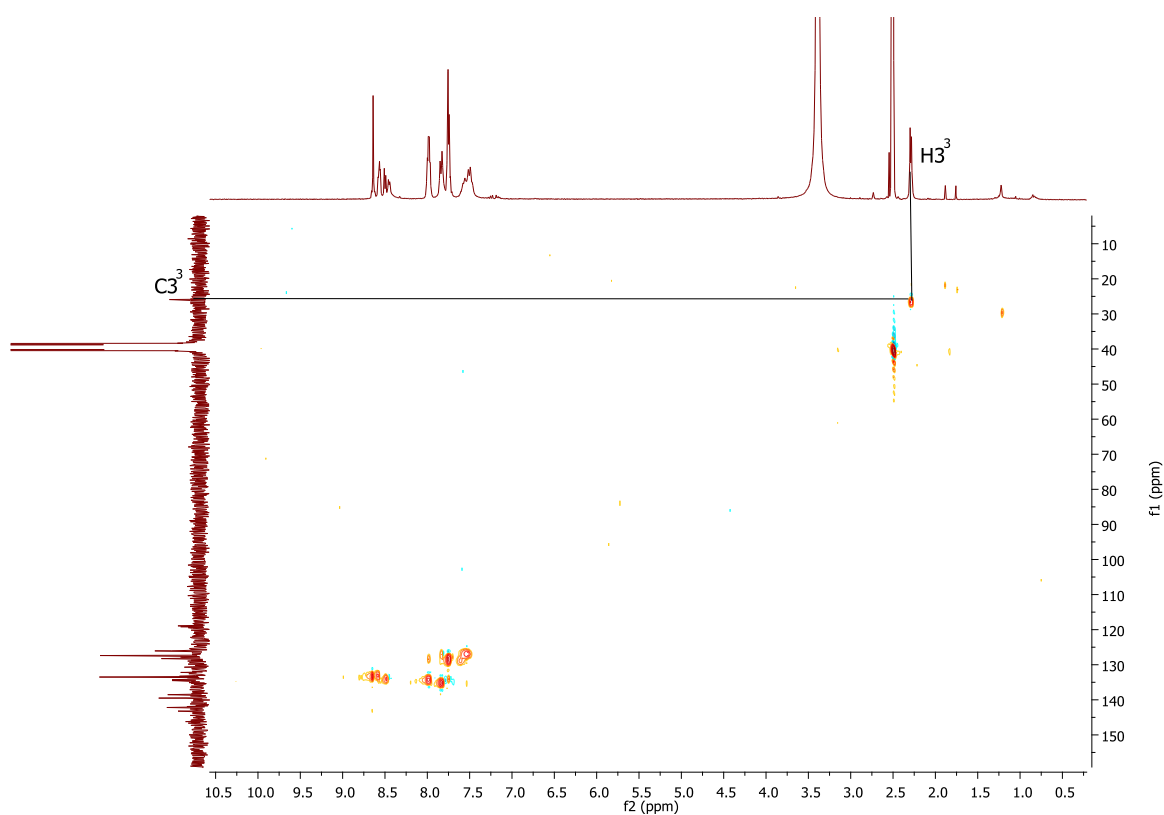
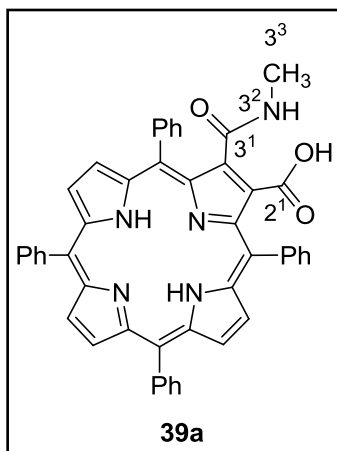


Figura P3.12. Espectro de HSQC do composto **39**.

Síntese do ácido 5,10,15,20-tetrafenil3-(metilcarbamoil)porfirina-2-carboxílico **39a**



Uma solução de composto **39** (10,0 mg) em $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (9:1) (1 mL), foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO_3 , extraída com CH_2Cl_2 e seca em Na_2SO_4 anidro. O solvente foi evaporado até à secura e o produto **39a** foi cristalizado em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EP}$, tendo sido obtido quantitativamente

39a: RMN de ^1H (300 MHz; DMSO-d_6 ; 333 K) -2,72 (s, 2H, NH); 2,42 (d, 3H, $J=4,5$ Hz); 7,53-7,57 (m, 2H, Ph-H); 7,62-7,67 (m, 3H, Ph-H); 7,81-7,82 (m, 5H, Ph-H); 8,05-8,11 (m, 4H, Ph-H); 8,17-8,20 (m, 4H, Ph-H); 8,24-8,26 (m, 2H, Ph-H); 8,58 (d, 1H, $\beta\text{-H}$, $J = 4,8$ Hz); 8,64-8,72 (m, 5H, $\beta\text{-H}$); **HRMS (ESI)**: $m/z = 716,2656$ (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+$ 716,2655); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 428 (4,98); 523 (3,61); 560 (3,46); 603 (3,28); 656 (3,13).

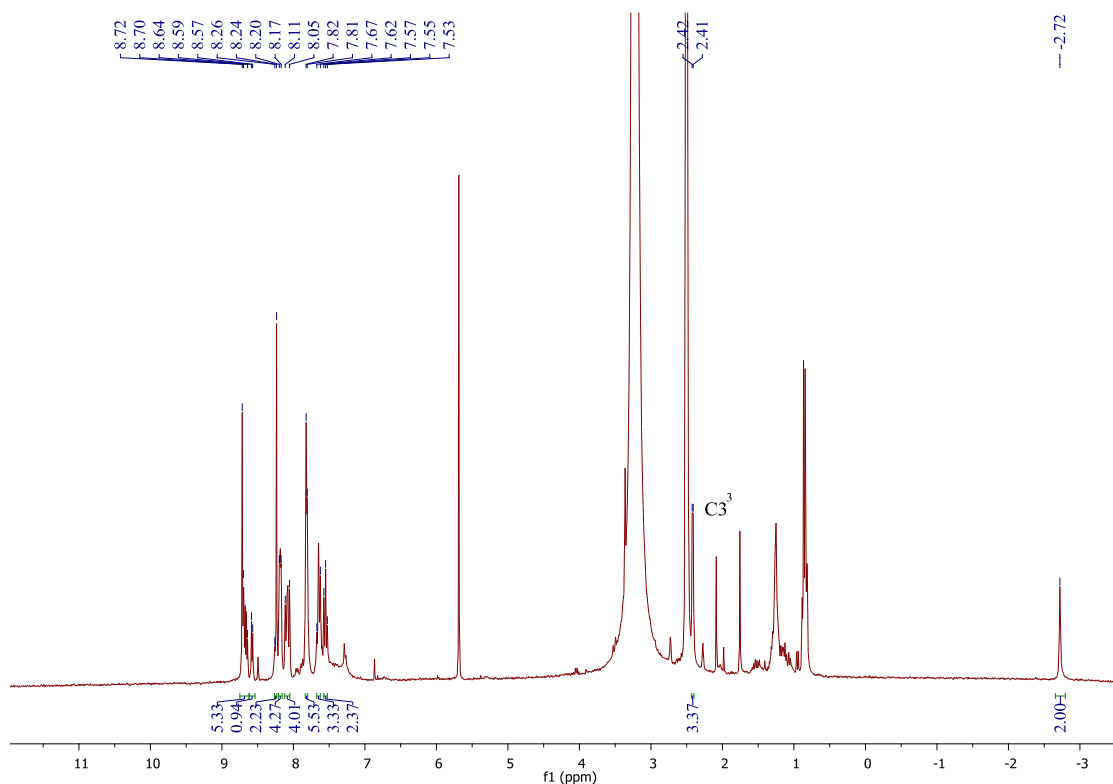
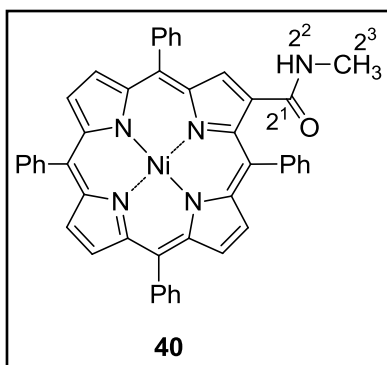


Figura P3.13. Espectro de RMN de ^1H do composto **39a**.

1,3-Dioxopirrolloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

Nota: O composto **39a** apresentou um elevado grau de agregação às concentrações requeridas para obter um bom espectro de RMN de ^{13}C . Por este motivo não foi possível obter um espectro de RMN de ^{13}C com uma resolução satisfatória.

Síntese do complexo de níquel de 5,10,15,20-tetrafenil2-(metilcarbamoil)porfirina **40**



Uma solução de composto **39** (10,0 mg; 12,9 μmol) em DMSO (1 mL) foi aquecida a refluxo durante 16 horas. Após este tempo não se observou, por TLC, a existência de material de partida no meio reacional e a reação foi deixada a arrefecer até à temperatura ambiente. A mistura reacional foi lavada com água e extraída com CH_2Cl_2 . Após evaporação do solvente, a pressão reduzida, a mistura foi cromatografada numa coluna de sílica usando CH_2Cl_2 como eluente, e foram obtidas duas frações. A primeira fração correspondeu à 1,3-DPP **37** (1,8 mg; 19%) e a segunda fração foi identificada como sendo a amida **40** (4,9 mg; 52%).

40: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 2,53 (d, 3H, H^{2^3} , $J = 4,8$ Hz); 5,39 (q, 1H, H^{2^2} , $J = 4,8$ Hz); 7,64-7,69 (m, 12H, Ph-H); 7,97-8,01 (m, 8H, Ph-H); 8,57 (d, 1H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,0$ Hz); 8,67 (d, 1H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,0$ Hz); 8,696 e 8,732* (sistema AB, 2H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,0$ Hz); 8,701 e 8,734* (sistema AB, 2H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,0$ Hz); 8,90 (s, 1H, $\beta\text{-H}$); **RMN de ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3): δ 26,8 (C^{2^3}); 118,8 (C-meso); 119,1 (C-meso); 119,2 (C-meso); 119,4 (C-meso); 126,8; 127,0; 127,85; 127,94; 128,3; 132,1; 132,46; 132,51; 132,7; 133,2; 133,6; 133,7; 133,9; 134,2; 137,7; 139,7; 139,9; 140,2; 140,5; 141,2; 142,4; 143,0; 143,3; 143,8; 167,7 (C^{2^1}); **HRMS** (ESI): $m/z = 727,1877$ (calcd. $[\text{M}]^+$: 727,1877); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 418 (50,5); 532 (3,95).

*Estes assinalamentos podem ser permutados.

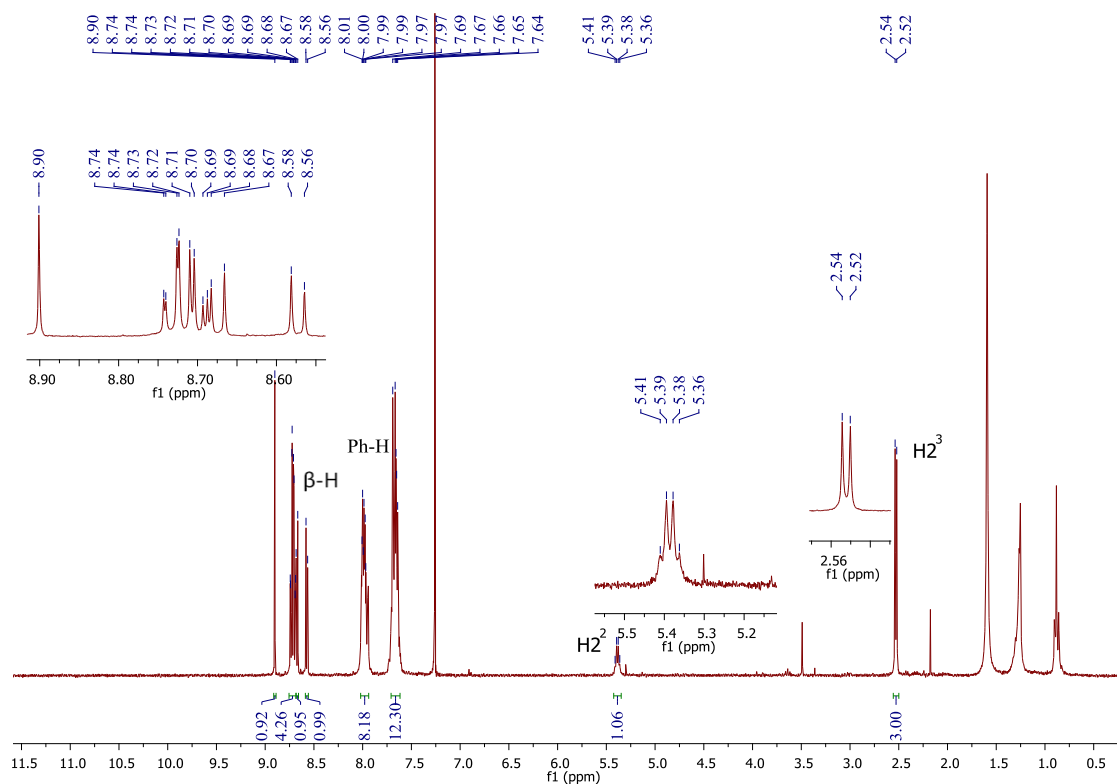


Figura P3.14. Espectro de RMN de ¹H do composto **40**.

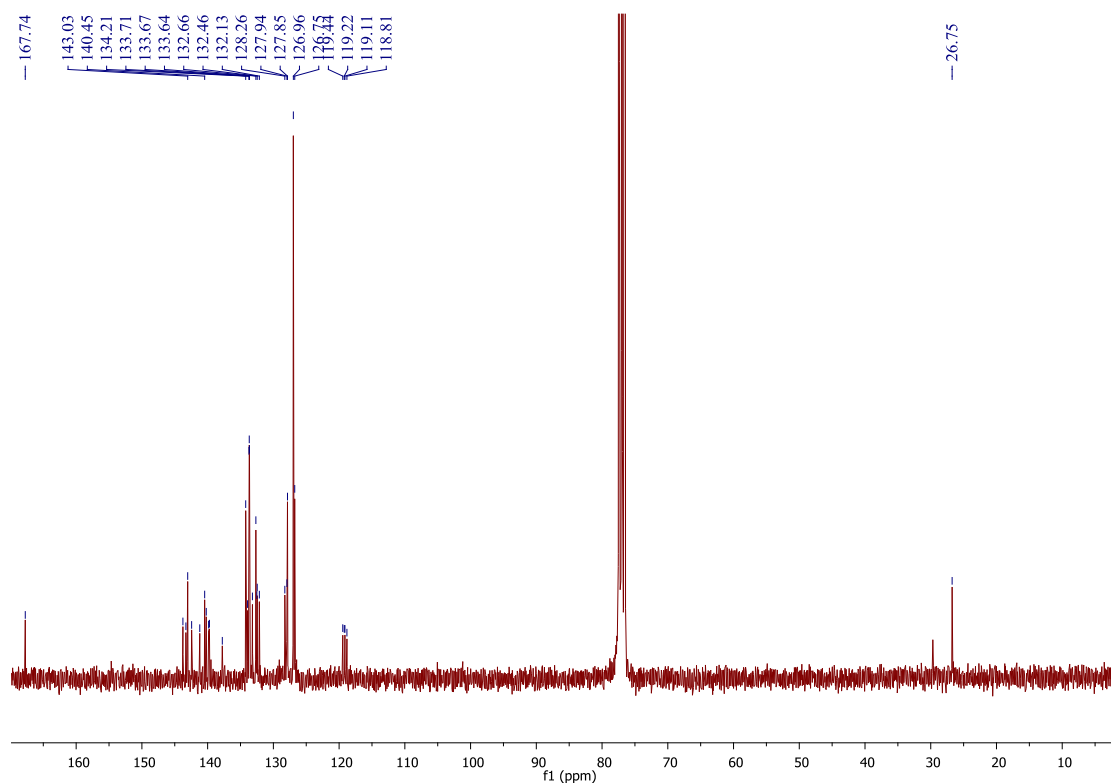


Figura P3.15. Espectro de RMN de ¹³C do composto **40**.

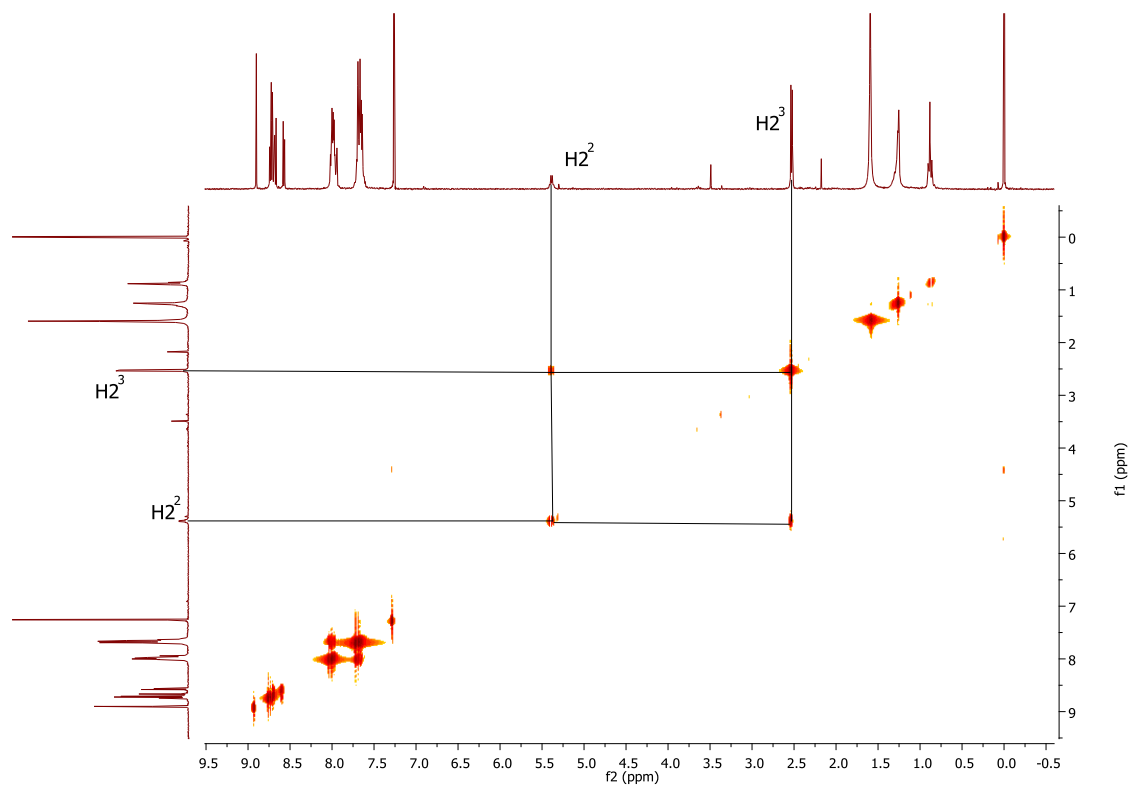


Figura P3.16. Espectro de COSY do composto **40**.

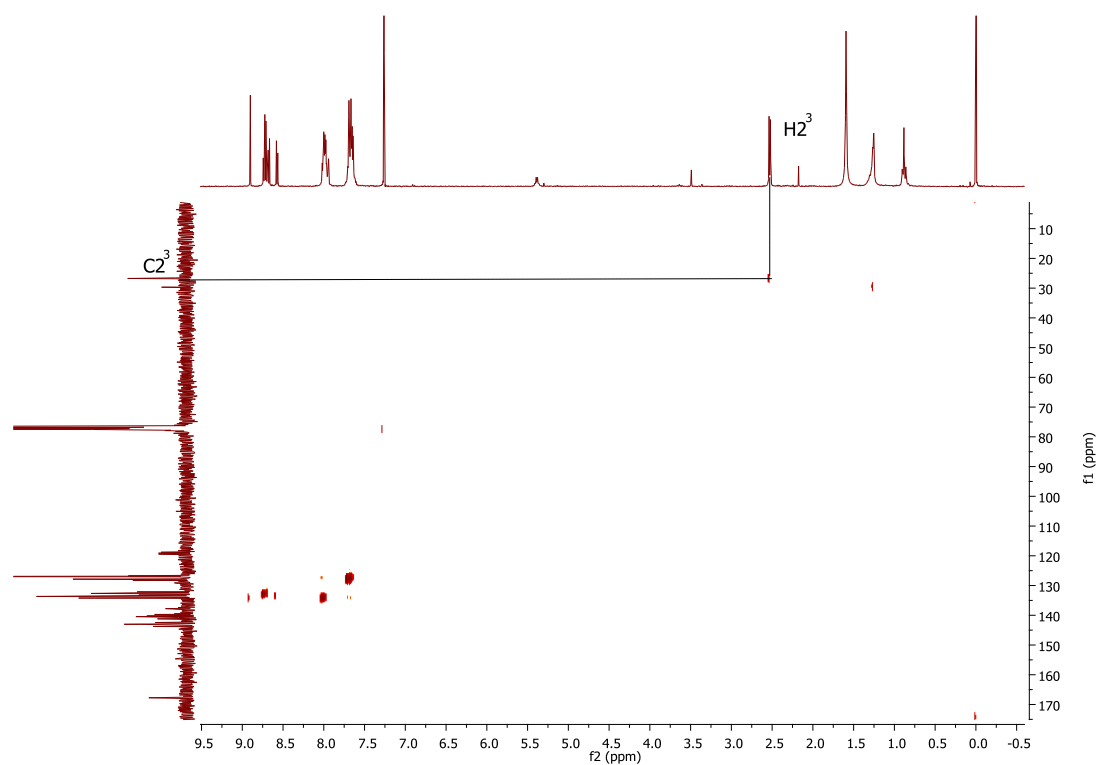
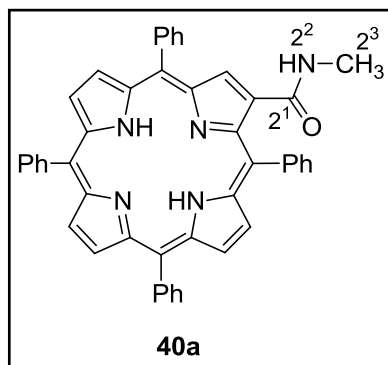


Figura P3.17. Espectro de HSQC do composto **40**.

Síntese da 5,10,15,20-tetrafenil2-(metilcarbamoil)porfirina **40a**



Uma solução de composto **40** (10,0 mg) em $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (9:1) (1 mL), foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa saturada de NaHCO_3 , extraída com CH_2Cl_2 e seca em Na_2SO_4 anidro. O solvente foi evaporado até à secura e o produto **40a** foi cristalizado em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EP}$ tendo sido obtido

quantitativamente.

40a: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): -2,76 (s, 2H, NH); 2,63 (d, 3H, $\text{H}2^3$, $J = 5,1$ Hz); 5,68 (q, 1H, $\text{H}2^2$, $J = 5,1$ Hz); 7,70-7,79 (m, 12H, Ph-H); 8,16-8,25 (m, 8H, Ph-H), 8,76-8,89 (m, 6H, β -H); 8,94 (s, 1H, β -H); **RMN de ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3): 26,8 ($\text{C}2^3$); 120,3 (C-meso); 120,5 (C-meso); 120,7 (C-meso); 126,6; 126,70; 126,72; 126,80; 127,81; 127,9; 128,2; 134,5; 134,56; 134,59; 135,4; 141,0; 141,7; 141,9; 142,0; 168,8 ($\text{C}2^1$); **HRMS** (ESI): $m/z = 672,2758$ (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+ 672,2753$); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 420 (5,59); 518 (4,23); 554 (3,87); 593 (3,76); 649 (3,71).

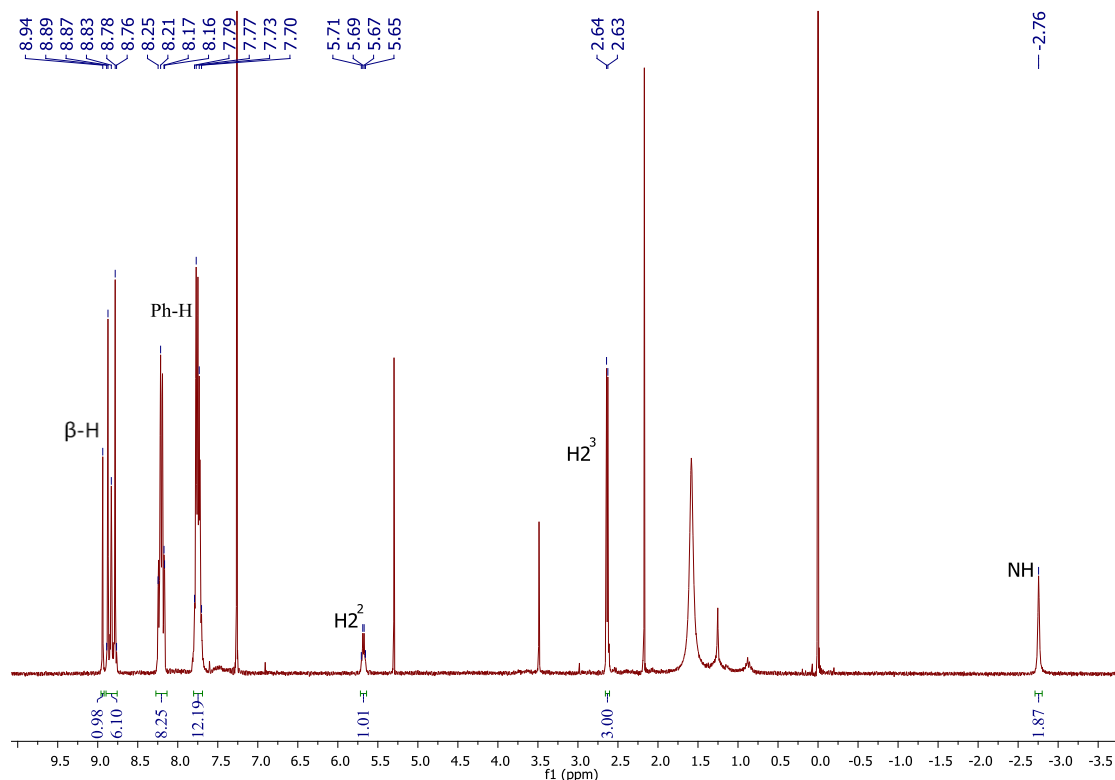


Figura P3.18. Espectro de RMN de ^1H do composto **40a**.

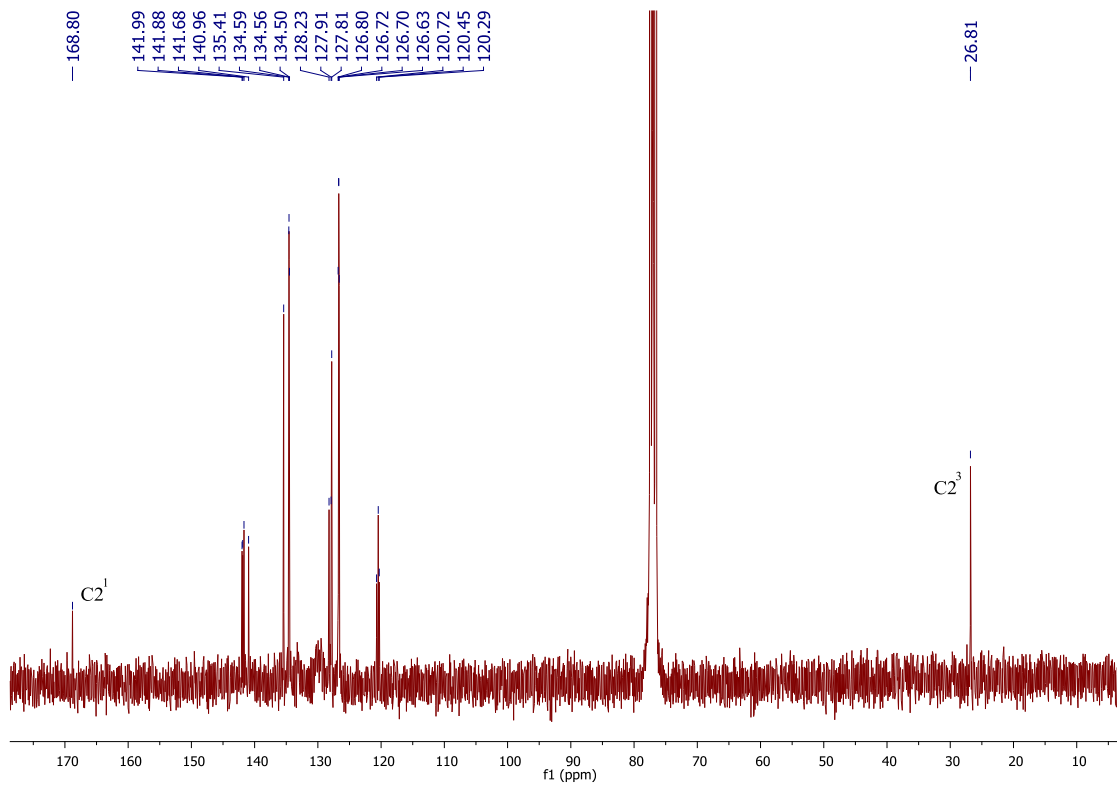
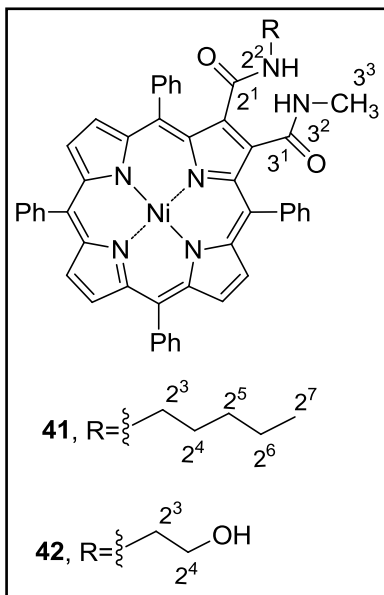


Figura P3.19. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **40a**.

Síntese das porfirina-2,3-dicarboxamidas **41** e **42**



A uma solução de composto **37** (10,0 mg) em tolueno (1 mL) foi adicionado um excesso de amina (500 μ L). A mistura mantida em refluxo, sob agitação, durante 1 hora. Após este tempo foi observada uma alteração de cor, de verde para vermelho, e não foi detetado material de partida em TLC. A mistura reacional foi neutralizada com uma solução aquosa de ácido cítrico, extraída com CH_2Cl_2 e o solvente foi evaporado, sob pressão, até à secura. O produto foi precipitado em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EP}$, tendo sido obtido, quantitativamente, na forma de um sólido vermelho escuro.

41: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 0,80-0,94 e 1,37-1,41 (m, $5\text{H}+4\text{H}$, $\text{H}2^{4-7}$); 2,56 (d, 3H, $\text{H}3^3$, $J = 4,9$ Hz); 2,92 (q, 2H, $\text{H}2^3$, $J = 6,0$ Hz); 6,18-6,26 (m, 2H, $\text{H}3^2$ e $\text{H}2^2$); 7,55-7,69 (m, 12H, Ph-H); 7,92-7,99 (m, 8H, Ph-H); 8,60-8,64 (m, 4H, β -H); 8,68 (s largo, 2H, β -H); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 13,9; 22,3; 26,6 ($\text{C}2^3$); 28,9; 29,7; 40,1 ($\text{C}3^3$); 119,2 (C-meso); 119,5 (C-meso); 119,7 (C-meso); 126,3; 127,0; 127,9; 128,18; 128,23; 132,2; 132,7; 133,4; 133,8; 134,6; 134,7; 136,2; 136,4; 139,0; 139,1; 140,1; 140,3; 140,4; 143,6; 143,8; 143,9; 165,7 ($\text{C}3^1$); 166,7 ($\text{C}2^1$); HRMS (ESI): $m/z = 841,2807$ (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+ 841,2796$); UV-vis (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 421 (5,33); 535 (4,18); 570 (3,90).

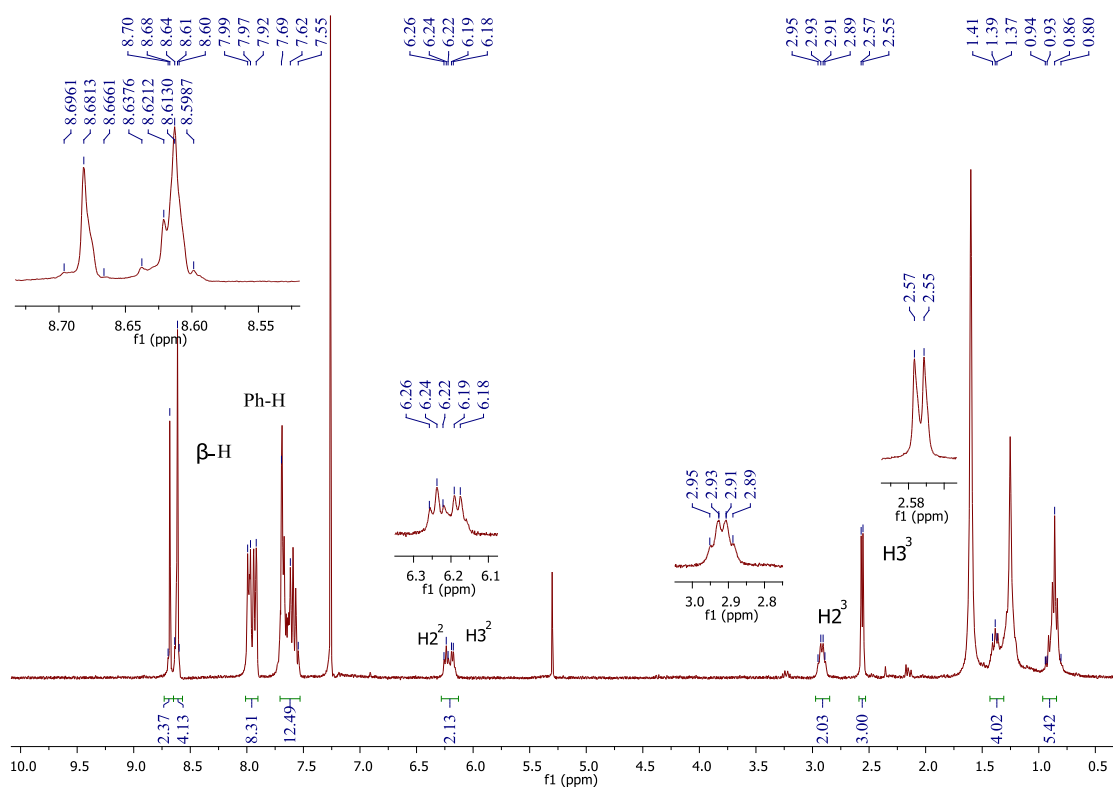


Figura P3.20. Espectro de RMN de ^1H do composto **41**.

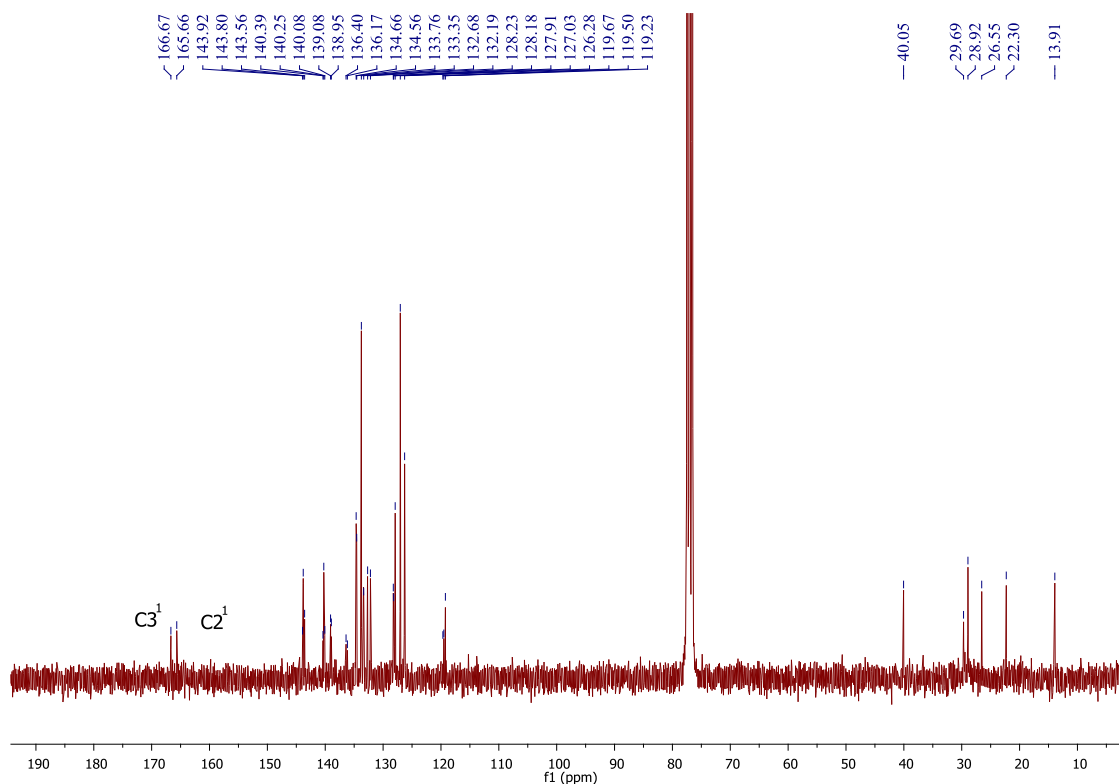


Figura P3.21. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **41**.

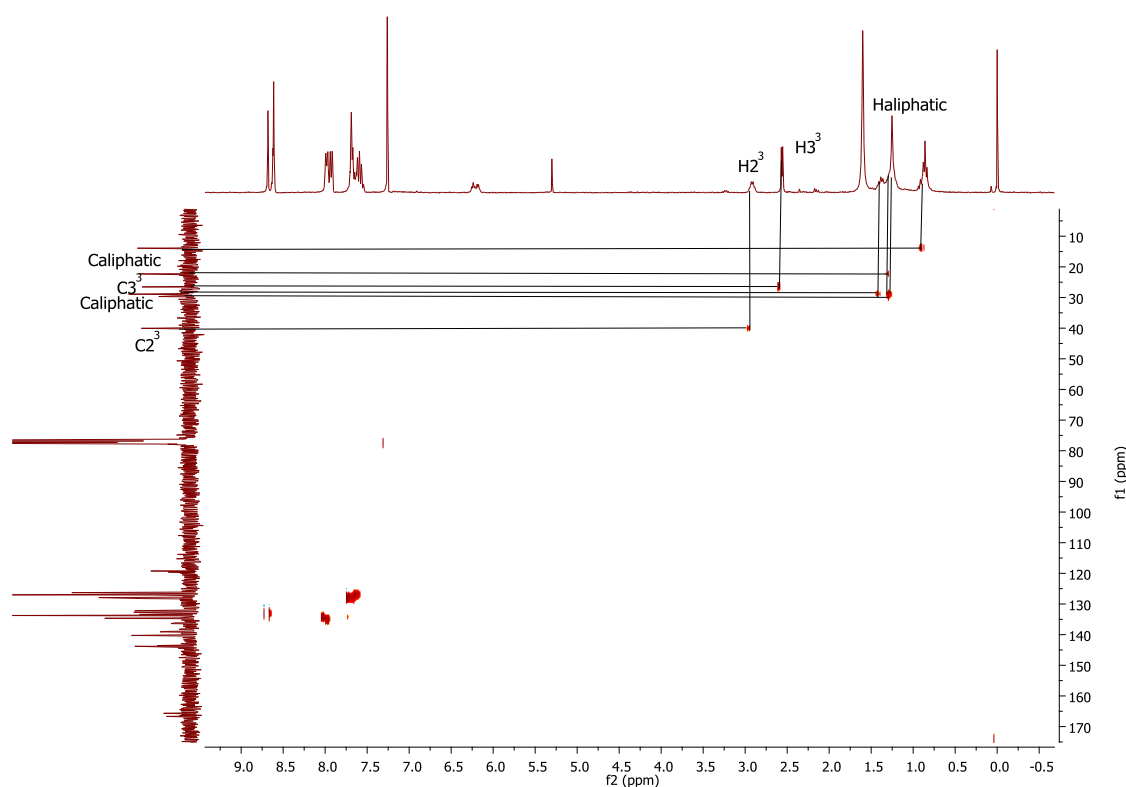


Figura P3.22. Espectro de HSQC do composto **41**.

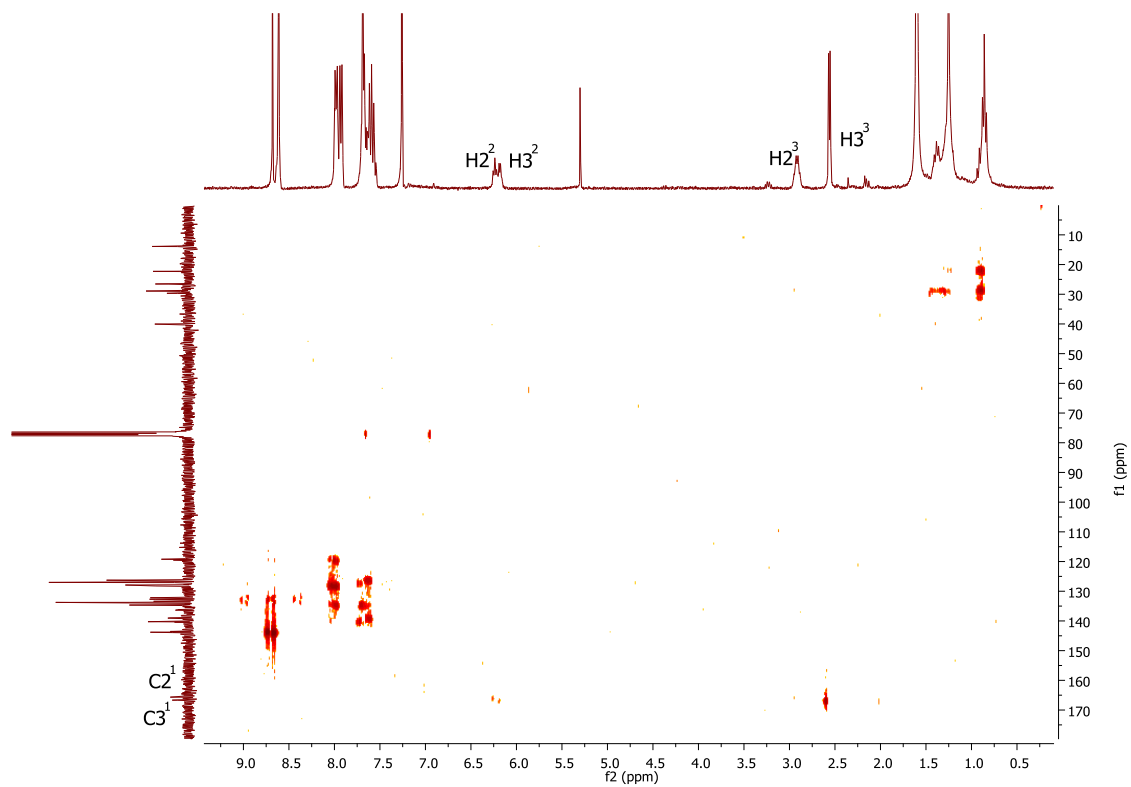


Figura P3.23. Espectro de HMBC do composto **41**.

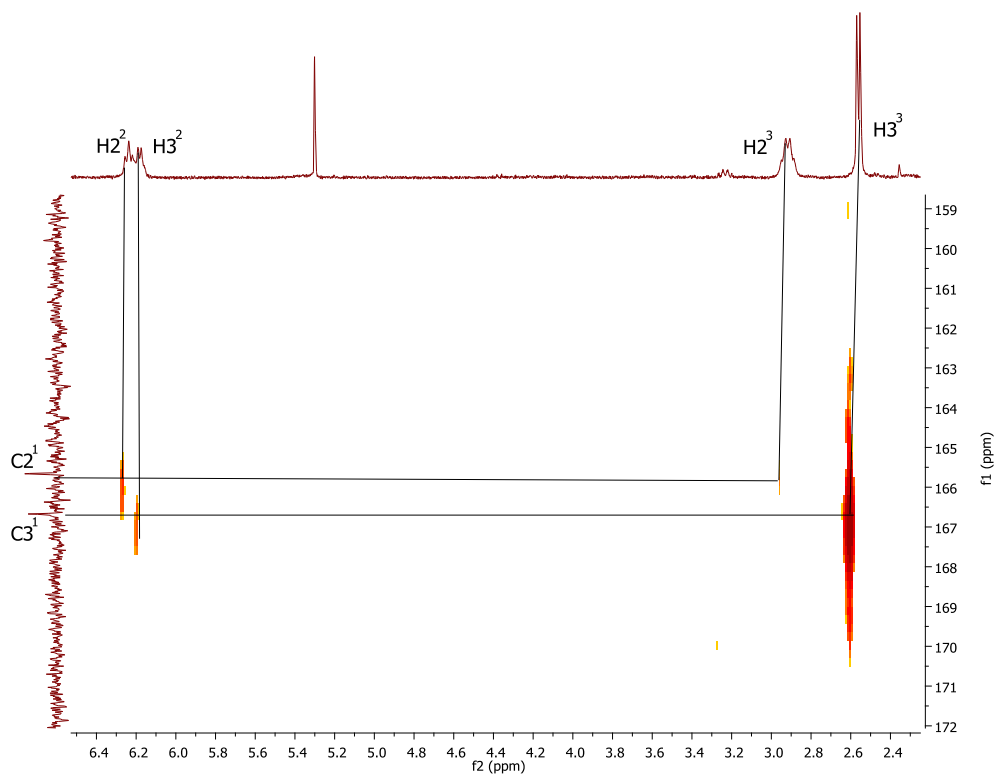


Figura P3.24. Espectro parcial de HMBC do composto **41**.

42: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 2,46 (d, 3H, H_3^3 , $J = 4,8$ Hz); 3,07-3,11 (m, 2H, H_2^3); 3,54-3,57 (m, 2H, H_2^4); 5,82 (q, 1H, H_3^2); 6,64 (t, 1H, H_2^2 , $J = 6,0$ Hz); 7,51-7,70 (m, 12H, *m*-Ph-H and *p*-Ph-H); 7,89-7,99 (m, 8H; *o*-Ph-H); 8,55 (d, 1H, β -H, $J = 5,1$ Hz); 8,60-8,66 (m, 3H, β -H); 8,68 e 8,70 (sistema AB, 2H, β -H, $J = 5,2$ Hz); **RMN de ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3): 26,6 (C_2^3); 43,0 (C_3^3); 61,4 (C_2^4); 119,25 (C-*meso*); 119,30 (C-*meso*); 119,6 (C-*meso*); 126,2; 126,6; 127,1; 128,0; 128,3; 128,4; 132,3; 132,4; 132,8; 133,4; 133,6; 133,7; 134,4; 134,7; 135,5; 136,1; 138,8; 139,0; 139,7; 140,1; 143,6; 143,8; 144,4; 166,4 (C_3^1); 167,5 (C_2^1); **HRMS** (ESI): $m/z = 815,2289$ (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+ 815,2275$); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 444 (5,27), 526 (4,13); 560 (3,79).

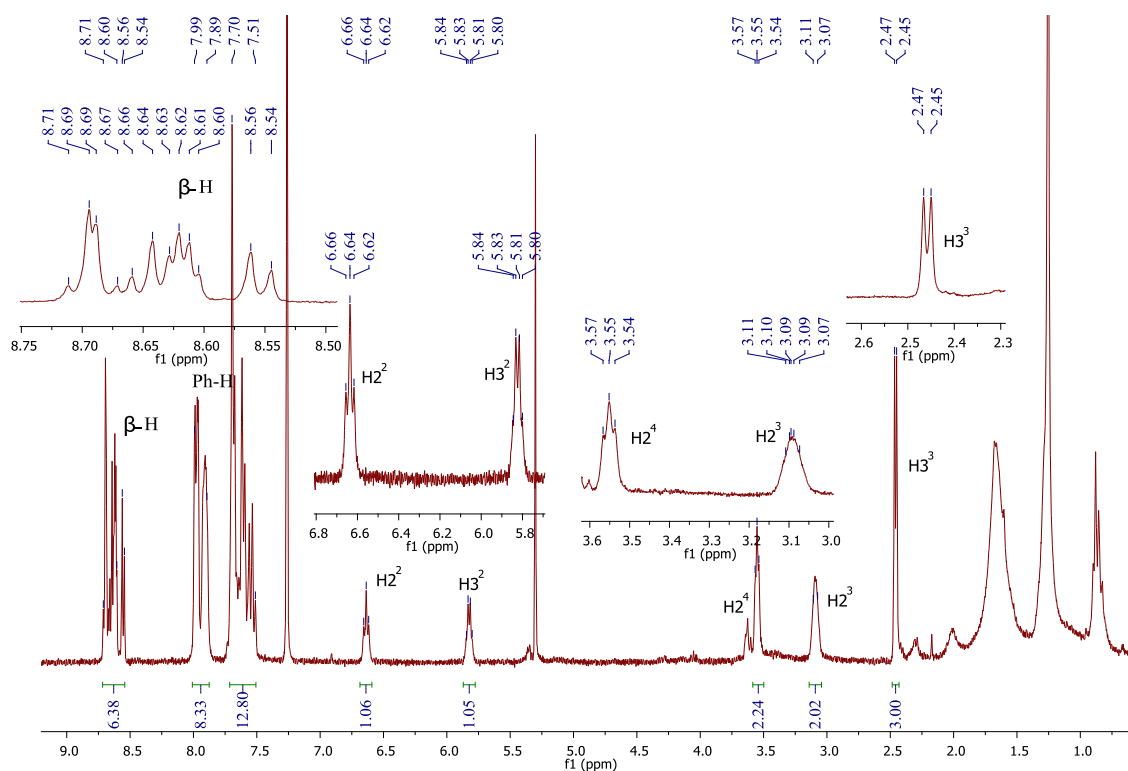


Figura P3.25. Espectro de RMN de ^1H do composto **42**.

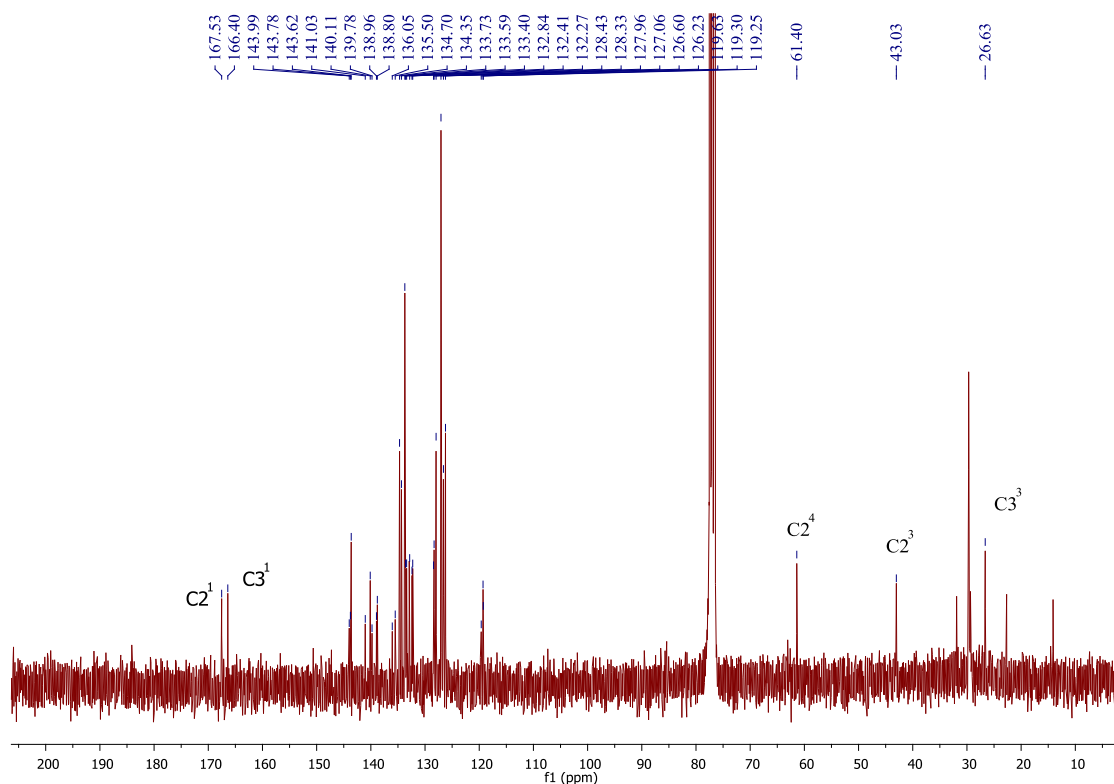


Figura P3.26. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **42**.

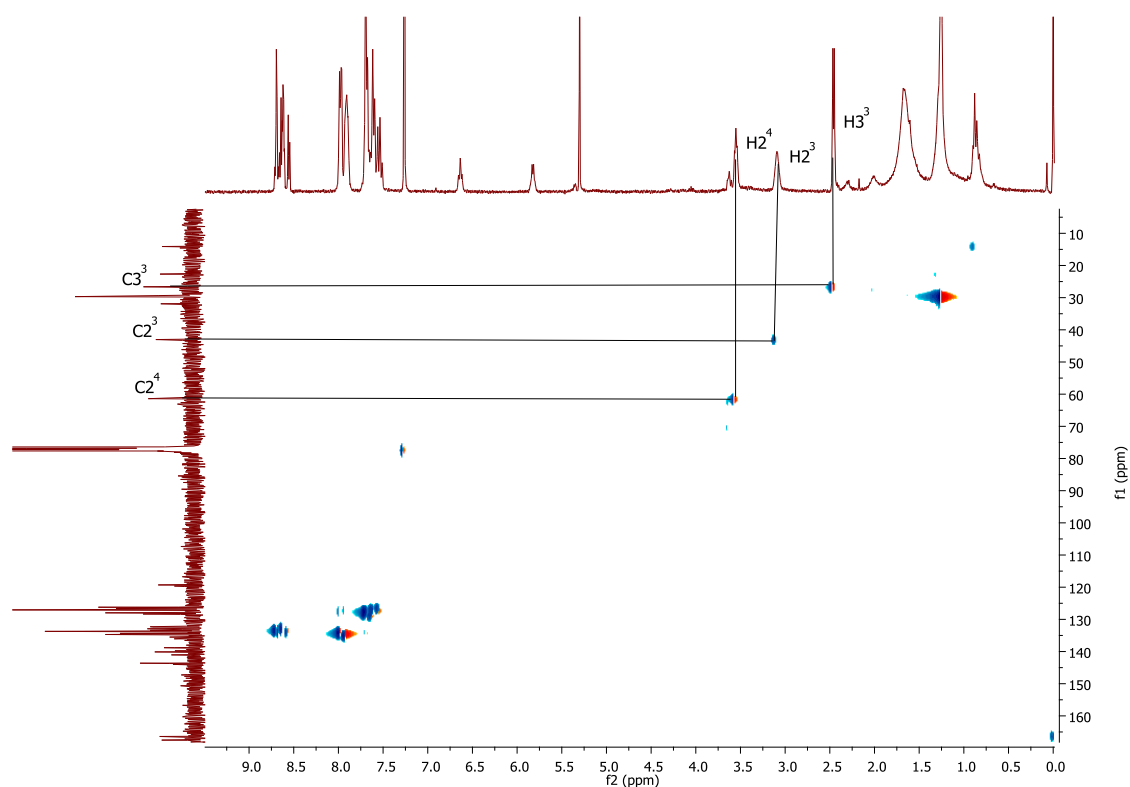
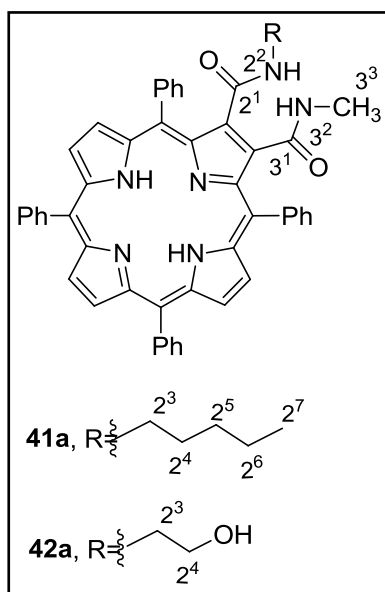


Figura P3.27. Espectro de HSQC do composto **42**.

Síntese das porfirina-2,3-dicarboxamidas **41a e **42a****



Uma solução de composto **6** (ou **8**) (10,0 mg) em H₂SO₄/CH₂Cl₂ (9:1) (1 mL) foi deixada em agitação durante 5 minutos. Terminado este tempo a mistura reacional foi neutralizada com uma solução saturada de NaHCO₃, extraída com CH₂Cl₂ e seca em Na₂SO₄ anidro. O solvente foi evaporado até à secura e o produto **41a** (e **42a**) foi cristalizado em CH₂Cl₂/EP tendo sido obtido quantitativamente

41a: RMN de ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ -2,76 (s, 2H, NH); 0,85-0,90 e 1,37-1,44 (m, 5H+4H, H²⁴⁻⁷); 2,60 (d, 3H, H³³, *J* = 4,9 Hz); 2,93-2,99 (m, 2H, H²³); 6,27 (q, 1H, H³², *J* = 4,9 Hz); 6,37 (t, 1H, H²², *J* = 5,7 Hz); 7,65-7,79 (m, 12H, Ph-H); 8,18-8,21 (m, 8H, Ph-H); 8,71-8,84 (m, 6H, β-H); RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 13,9; 22,3; 26,6; 28,9; 29,7; 40,0; 120,29 (C-*meso*); 120,31 (C-*meso*); 121,3 (C-*meso*); 121,4 (C-*meso*); 126,2; 126,8; 127,9; 128,2; 128,3; 134,66; 134,68; 135,7; 135,9; 140,4; 140,5; 141,6; 166,7 e 167,8 (C²¹ e C³¹); HRMS (ESI): *m/z* = 785,3597 (calcd. [M+H]⁺ 785,3599); UV-vis (CHCl₃) λ_{max} (log ε) 423 (5,21); 520 (4,03); 554 (3,52); 597 (3,48); 655 (3,60).

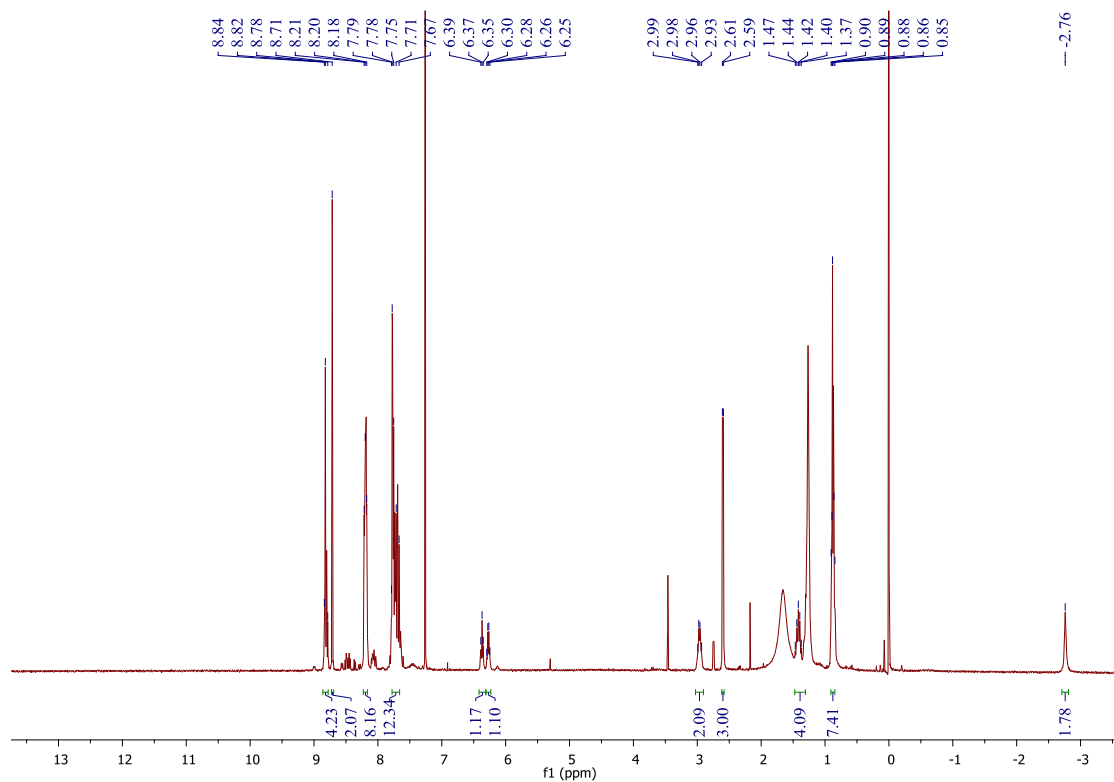


Figura P3.28. Espectro de RMN de ¹H do composto **41a**.

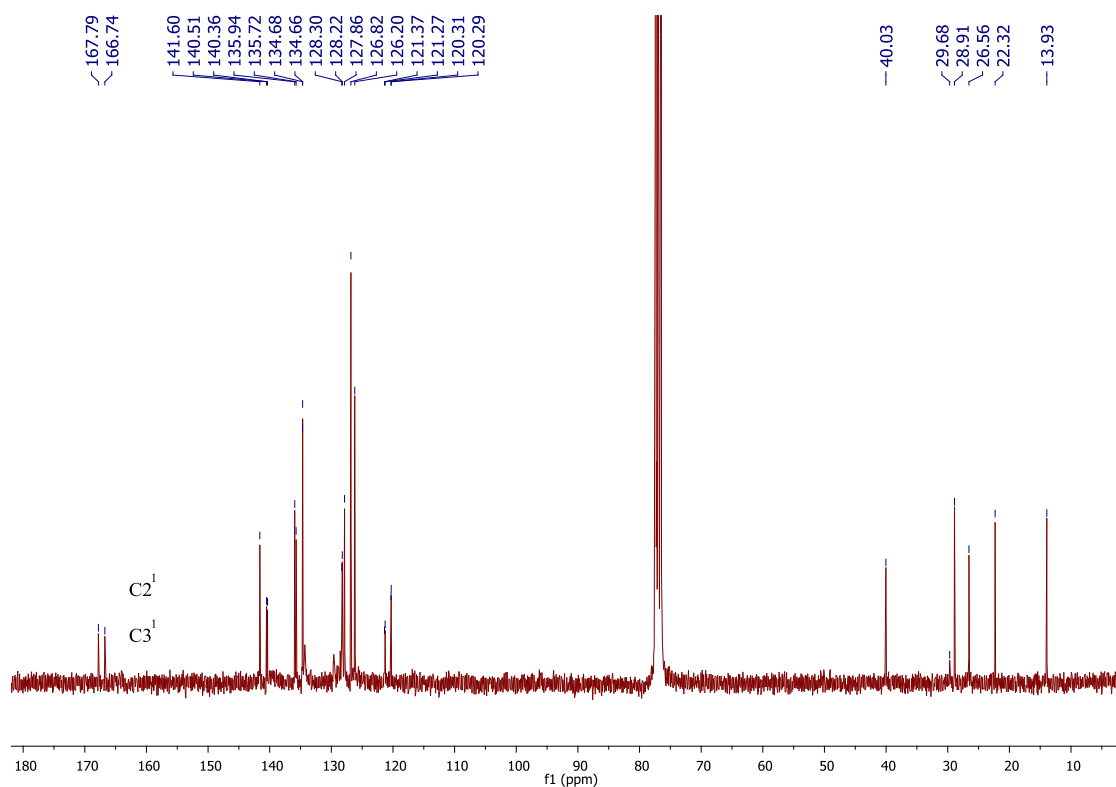


Figura P3.29. Espectro de RMN de ¹³C do composto **41a**.

42a: RMN de ^1H (300 MHz; DMSO- d_6): δ -2,92 (s, 2H, NH); 2,41 (d, 3H, H_3^3 , $J = 4,7$ Hz); 2,95-3,02 (m, 2H, H_2^3); 3,68 (t, 2H, H_2^4 , $J = 6,7$ Hz); 7,64-7,85 (m, 12H, Ph-H); 8,08-8,13 (m, 4H, Ph-H); 8,21-8,24 (m, 4H, Ph-H); 8,71-8,73 (m, 4H, β -H); 8,83-8,85 (m, 2H, β -H); **RMN de ^{13}C** (125 MHz, DMSO- d_6): δ 25,8 (C_2^3), *sobreposto com o sinal de DMSO* (C_3^3); 64,0 (C_2^4); 120,2 (C-meso); 121,0 (C-meso); 125,9; 126,0; 127,1; 128,1; 128,2; 134,4; 135,5; 139,4; 141,5; 165,2 (C_3^1); 165,6 (C_2^1); **HRMS** (ESI): $m/z = 759,3068$ (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+ 759.3078$); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 423 (5,37); 520 (4,07); 554 (3,59); 554 (3,59); 597 (3,59); 653 (3,70).

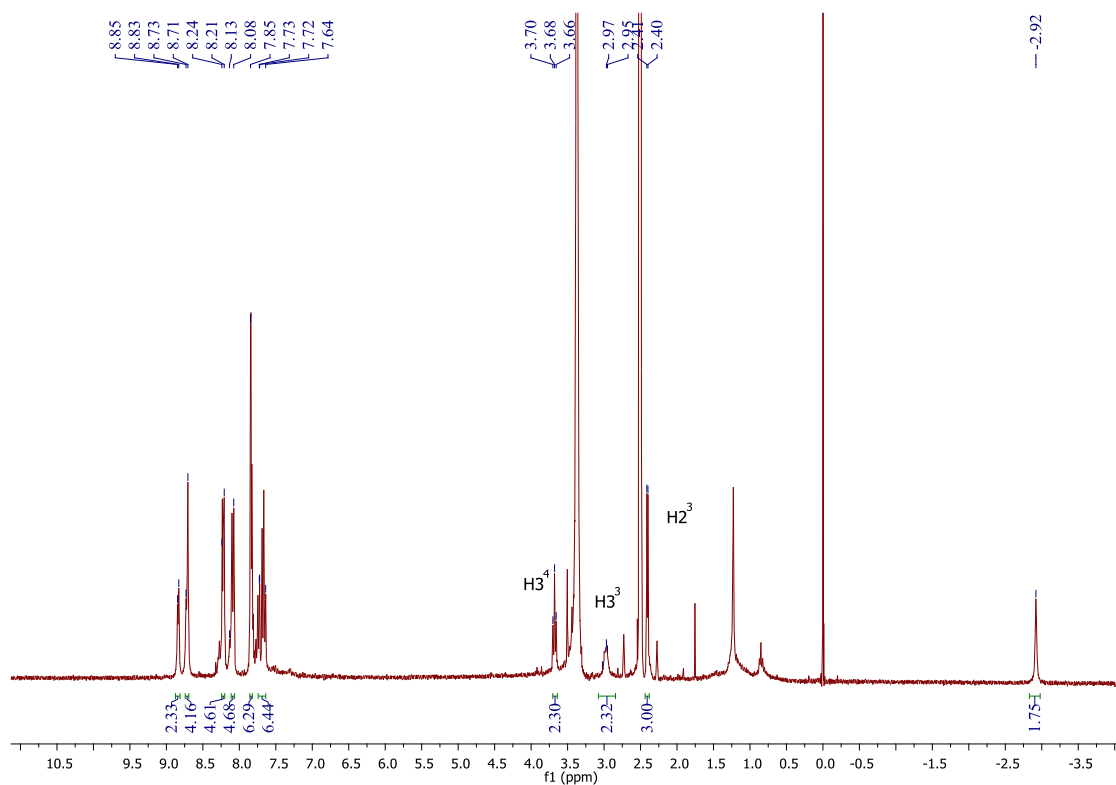


Figura P3.30. Espectro de RMN de ^1H do composto **42a**.

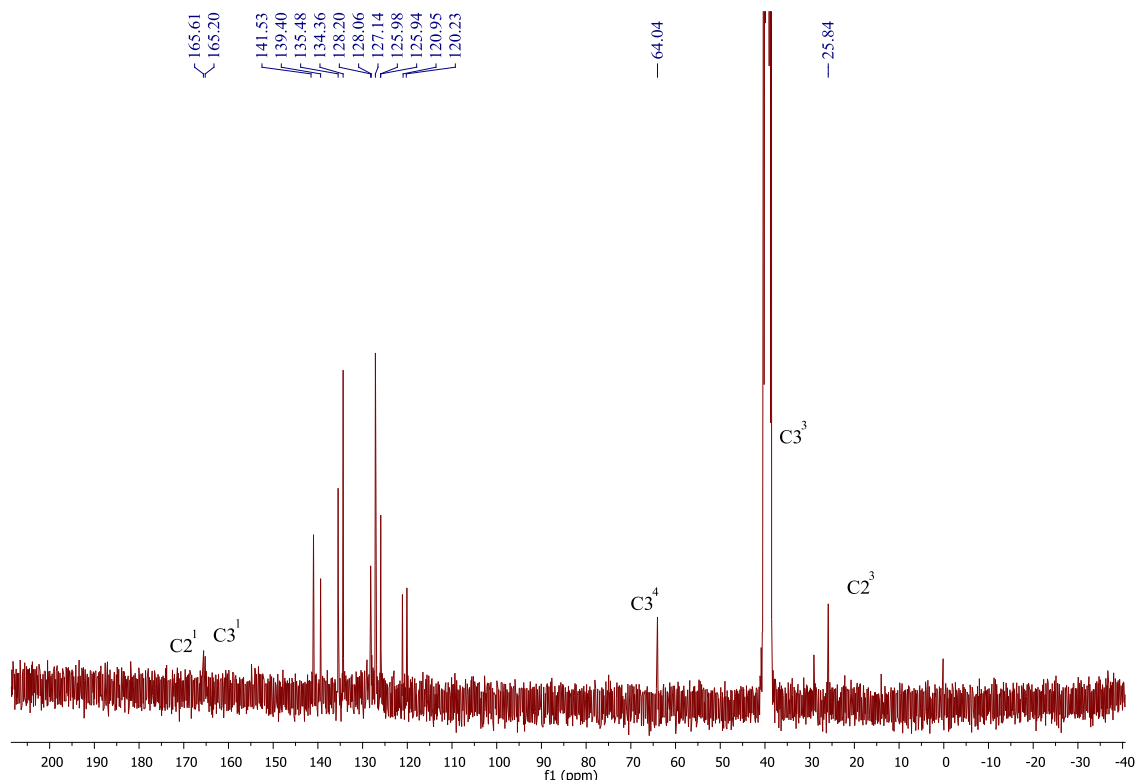
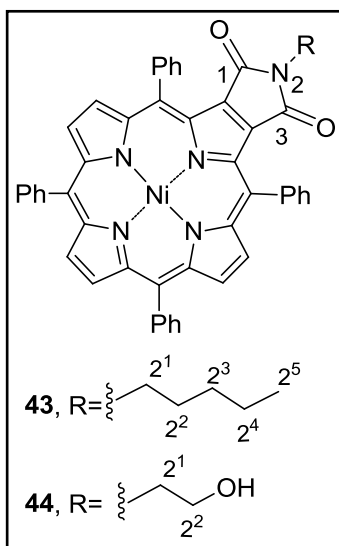


Figura P3.31. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **42a**.

Síntese das 1,3-dioxopirroloporfirinas **43** e **44**



A uma solução de **41** (ou **42**) (24,6 μmol) em 1,2,4-TCB (3 mL), foi adicionado $\text{La}(\text{OTf})_3$ (2,0 mg; 3,4 μmol). A mistura reacional foi deixada em agitação, a refluxo, durante 1 hora. Após este tempo foi observada uma alteração de cor, de vermelho para verde, e não foi detetado material de partida, em TLC. A mistura reacional foi submetida a cromatografia em coluna em sílica gel, utilizando, pela seguinte ordem, os eluentes: EP (para remover 1,2,4-TCB) e CH_2Cl_2 para obter as imidas resultantes; a partir do precursor **41**, as imidas **43** (38%) e **37** (32%) e a partir do precursor **42**, as imidas **44** (31%) e **37** (43%).

43: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 0,80-0,92 e 1,19-1,32 (m, 5H+4H (*sobrepostos com sinais de impurezas*), H_2^{2-5}); 3,50 (t, 2H, H_2^1 , $J = 7,7$ Hz); 7,64-7,67 (m, 10H, Ph-H); 7,77-7,82 (m, 2H, Ph-H); 7,87-7,95 (m, 8H, Ph-H); 8,56 (d, 2H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,1$ Hz); 8,63 (s, 2H, $\beta\text{-H}$), δ 8,71 (d, 2H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,1$ Hz); **HRMS** (ESI): $m/z = 810,2399$ (calcd. $[\text{M}+\text{H}]^+$ 810,2374); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 444 (5,21); 526 (3,79); 560 (3,97); 606 (4,35).

44: RMN de ^1H (300 MHz; CDCl_3): δ 3,71-3,79 (m, 4H, H_2^1 e H_2^2); 7,65-7,78 (m, 12H, Ph-H); 7,84-7,87 (m, 4H, Ph-H); 7,91-7,95 (m, 4H, Ph-H); 8,55 (d, 2H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,1$ Hz); 8,62 (s, 2H, $\beta\text{-H}$); 8,71 (d, 2H, $\beta\text{-H}$, $J = 5,1$ Hz); **RMN de ^{13}C** (125 MHz, CDCl_3): δ 40,7; 61,9; 119,0; 121,2; 127,2; 127,3; 128,1; 128,5; 132,8; 132,9; 133,3; 133,6; 133,8; 134,7; 139,6; 139,9; 140,1; 143,8; 144,8; 146,1; 163,3; **HRMS** (ESI): $m/z = 783,1775$ (calcd. $[\text{M}]^+ 783,1767$); **UV-vis** (CHCl_3) λ_{max} (log ϵ) 446 (5,13); 563 (3,88); 610 (4,31).

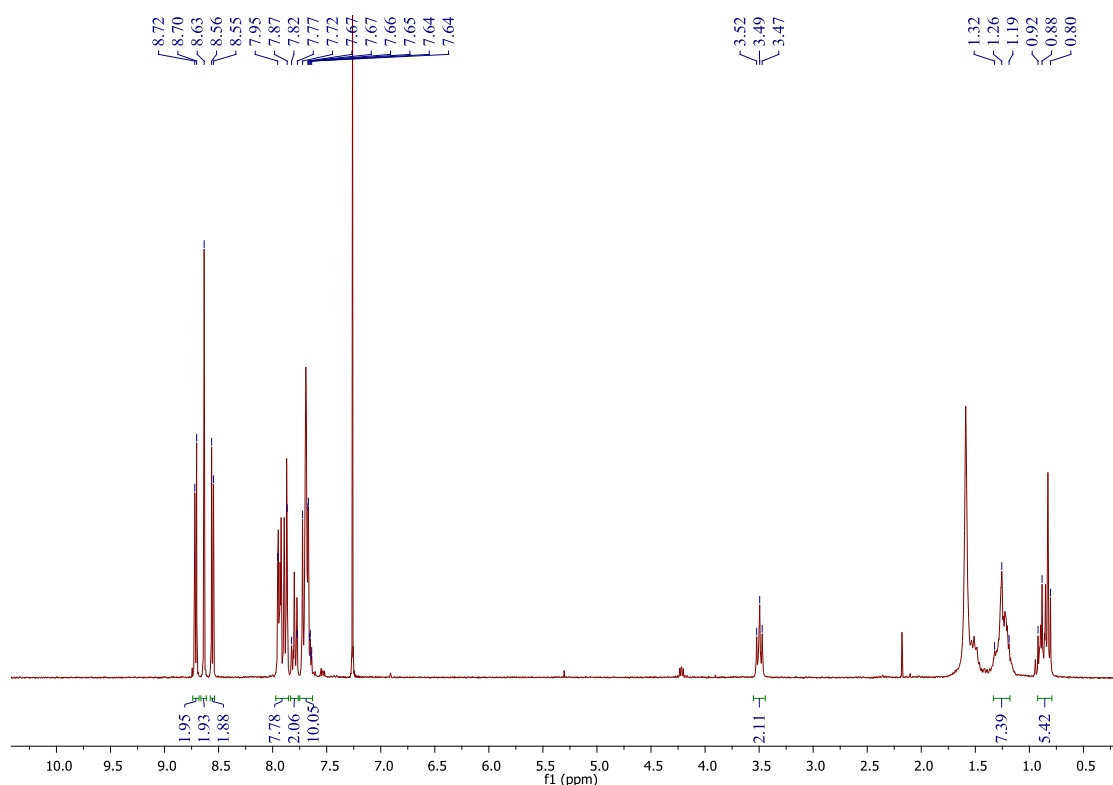


Figura P3.32. Espectro de RMN de ^1H do composto **43**.

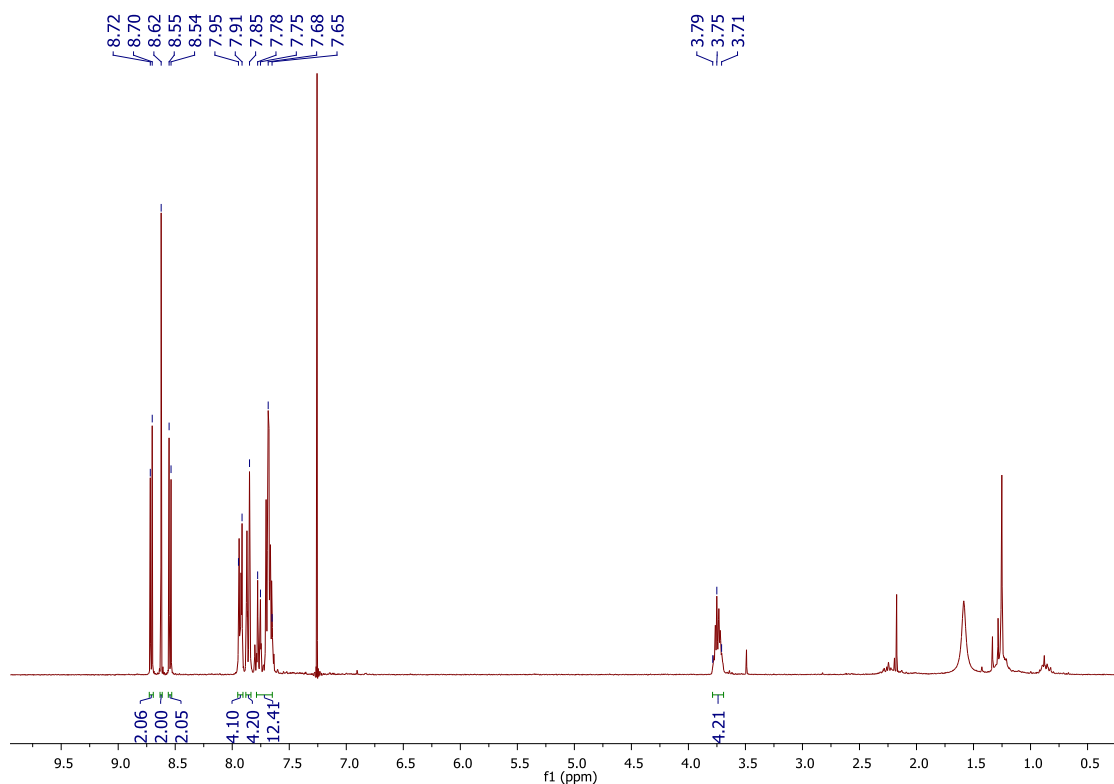


Figura P3.33. Espectro de RMN de ¹H do composto **44**.

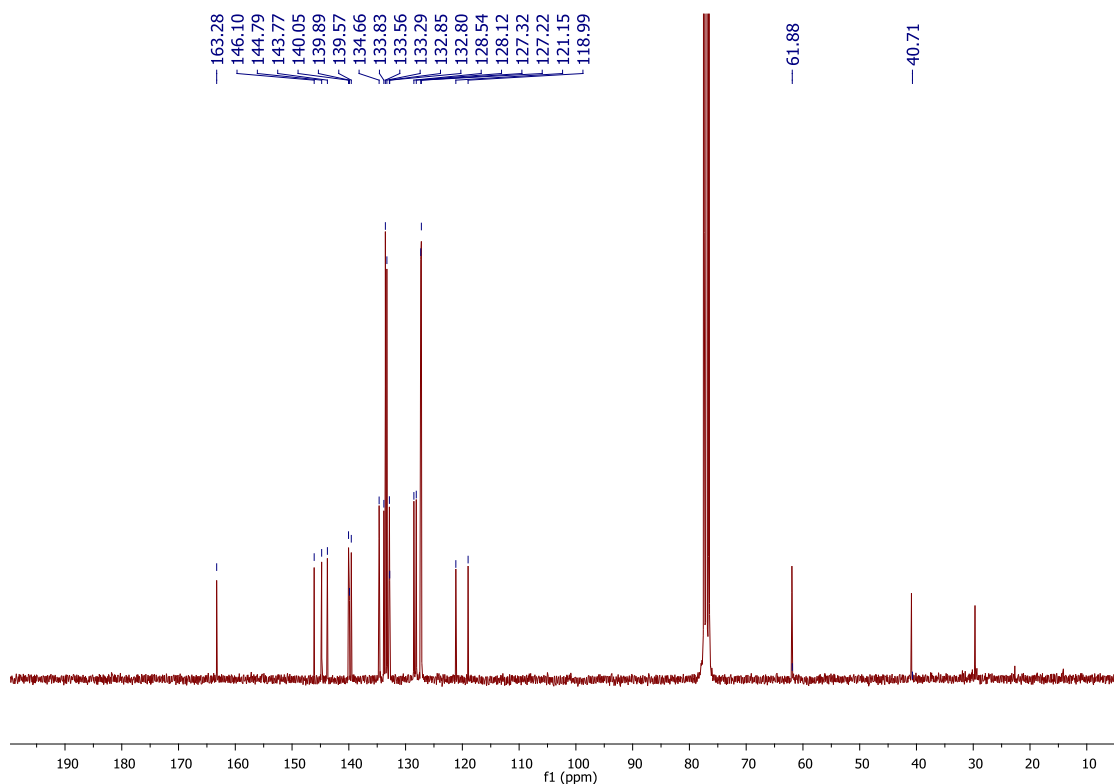


Figura P3.34. Espectro de RMN de ¹³C do composto **44**.

3.2. 1,3-Dioxopirroloporfirinas e porfirina-2,3-dicarboxamidas – Atividade Biológica em PDT

3.2.1. Preâmbulo

Nesta secção será descrito todo o trabalho realizado no âmbito da avaliação *in vitro* da atividade fotodinâmica dos compostos explicitados na figura 3.16, na linha celular tumoral HeLa. Serão também descritos os estudos conduzidos, em paralelo, com a linha celular saudável HaCaT, usada para uma avaliação preliminar da especificidade dos mesmos derivados.

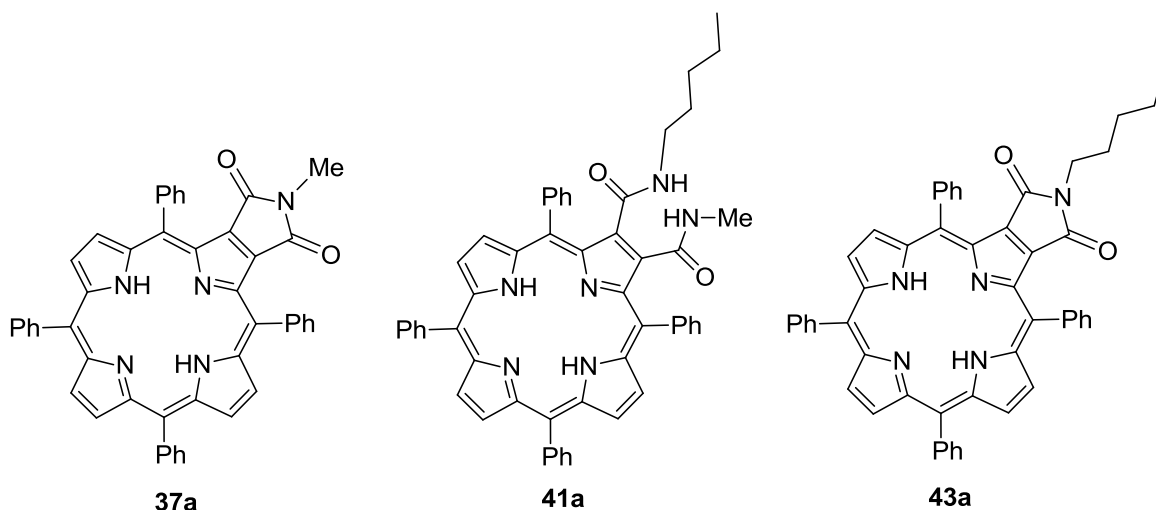


Figura 3.16. Compostos que foram alvo de avaliação biológica

Assim sendo, segue-se uma breve descrição básica da constituição e funcionalidade de células eucarióticas, seguindo-se algumas considerações relativas ao uso de linhas celulares em investigação, nomeadamente das linhas HeLa e HaCaT. Seguidamente serão explanados os princípios básicos da PDT, uma vez que esta é a técnica de eleição deste capítulo do trabalho.

1,3-Dioxopirrolloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

Seguidamente contemplar-se-á a parte experimental que envolveu três etapas distintas. Nas duas primeiras etapas determinou-se a geração relativa de $^1\text{O}_2$ por parte dos três PS selecionados e seguidamente avaliou-se a influência de cada um dos derivados na viabilidade celular. Tendo em conta os parâmetros anteriores selecionou-se o PS mais promissor e conduziram-se estudos de localização celular e de alterações morfológicas patrocinadas pelo tratamento fotodinâmico. Em cada um dos casos as técnicas usadas são descritas pormenorizadamente.

3.2.2. A Célula Eucariótica e PDT

A Célula Eucariótica – Princípios básicos

As células podem ser classificadas em dois grandes grupos: células eucarióticas (Fig. 3.17.), constituintes dos animais e plantas, e células procarióticas, constituintes de bactérias. Nesta secção dar-se-á apenas ênfase às células eucarióticas, uma vez que todo o trabalho experimental, que a seguir se descreve, contempla estudos em células de origem humana.



Figura 3.17. Representação esquemática de uma célula eucariótica (*adaptado de <http://www.daviddarling.info/encyclopedia/E/eukarycell.html>*)

1,3-Dioxopirrolloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

A célula eucariótica define-se como uma estrutura celular contendo compartimentos inclusos em membranas. O mais importante destes sub-sistemas membranares é o núcleo, sendo este organelo o responsável pela principal distinção das células procarióticas. O núcleo contém o material genético confinado ao seu próprio espaço. Todavia, o núcleo não é o único organelo membranar existente nas células eucarióticas; de destacar estruturas como a mitocôndria ou o complexo de Golgi, uma vez que estes desempenham funções vitais nas células animais. Para uma breve consulta, encontram-se descritas na tabela 3.2., as principais funções dos organelos fundamentais.

Tabela 3.2. Principais funções de organelos constituintes de uma célula eucariótica.

Organelo	Função
Núcleo	Manter a integridade dos genes e controlar a atividade da célula por regulação da expressão genética
Mitocôndria	Respiração (produção de ATP, dependente da presença de O ₂); ciclo do ácido cítrico; armazenamento de íons cálcio; apoptose; algumas reações de síntese de heme
Complexo de Golgi	Modificação, classificação e distribuição de moléculas para secreção da célula ou para uso dentro da célula, sendo destacável a modificação de proteínas provenientes do retículo endoplasmático rugoso
Lisossoma	Degradação de partículas/moléculas provenientes do meio extracelular, reciclagem de outros organelos e componentes celulares envelhecidos.
Retículo endoplasmático rugoso	Síntese de proteínas para secreção
Retículo endoplasmático liso	Síntese de lípidos, desintoxicação do organismo (degradação de etanol e medicamentos)
Ribossoma	Tradução da informação contida no mRNA, em produção de proteínas
Centríolo	Processos de divisão celular
Microfilamento	Movimentação celular

Linhas Celulares

A cultura de células é um processo complexo pelo qual células crescem em condições controladas laboratorialmente. O conceito de manter linhas celulares vivas, separadamente da fonte de tecido original, foi descoberto no século XIX. Contudo, só a partir de 1950 é que a cultura de células animais se tornou uma técnica laboratorial comum.⁵⁵ Neste trabalho dar-se-á relevo apenas a linhas celulares imortalizadas, ou seja, populações de células de um organismo multicelular que normalmente não proliferam indefinidamente, mas que, devido a uma mutação (natural ou induzida) ultrapassam a senescência celular normal, passando a dividir-se indefinidamente.⁵⁶ Em particular, serão focadas duas linhas celulares humanas, com diferentes características: HaCaT e HeLa.

Linha Celular HaCaT

HaCaT é uma linha celular humana de queratinócitos⁵⁷ (Fig. 3.18.) imortalizada que foi desenvolvida numa cultura, a longo termo, de queratinócitos de pele de adulto, em meio com concentração de cálcio reduzida e a elevada temperatura.⁵⁸

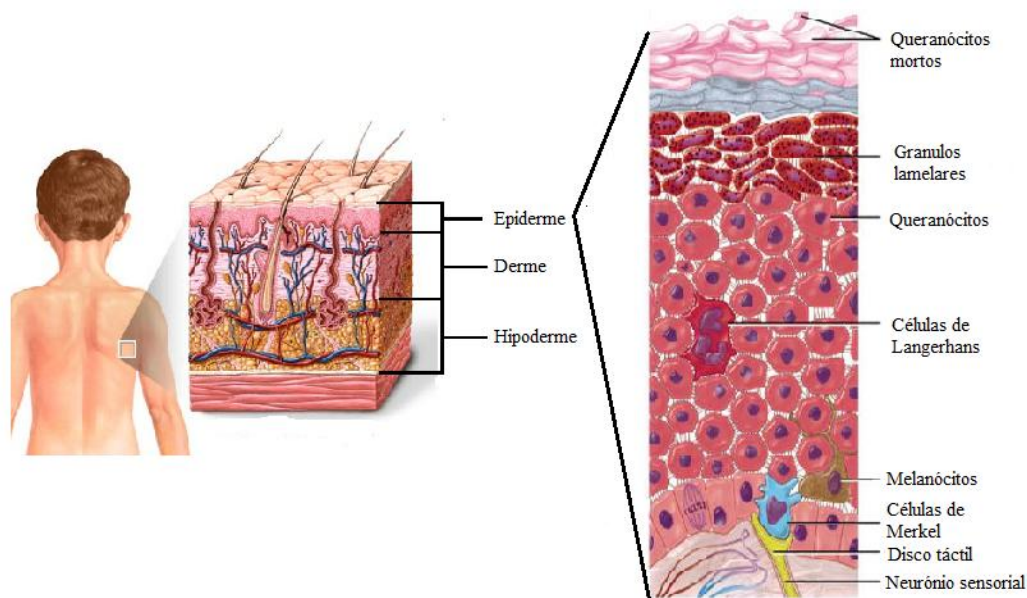


Figura 3.18. Localização representativa dos queratinócitos (adaptado de http://www.imperial.edu/~thomas.morrell/cha_5_tortora_integument.htm)

Esta linha celular foi designada de HaCaT (Ha = Human adult, Ca = Calcium, T = Temperature) de modo a indicar a sua origem e condições de cultura iniciais.⁵⁸

Linha Celular HeLa

HeLa é uma linha celular humana imortalizada, derivada de células epiteliais humanas de um carcinoma cervical, com origem na atividade do papilomavírus humano. Esta linha celular foi designada de HeLa devido ao facto de ter sido isolada pela primeira vez, em 1951, de uma paciente chamada **Henrietta Lacks**.⁵⁹

Esta linha celular caracteriza-se pela sua extraordinária durabilidade, proliferação e adaptação ao crescimento em diferentes meios de cultura, o que é bem ilustrado pelo facto de estas células constituírem uma contaminação de outras linhas celulares usadas em investigação.⁶⁰ A rápida proliferação das células HeLa poderá estar relacionada com a existência de uma versão ativa da telomerase durante a divisão celular, que impede a diminuição gradual dos telómeros, coibindo assim os processos relacionados com o envelhecimento e consequentemente com a morte celular.⁶¹

As invulgares características das células HeLa têm permitido que esta linha celular seja intensamente usada em investigação, nomeadamente em oncologia. Este facto pode ser facilmente medido pelo número de trabalhos existentes na literatura científica fazendo uso desta linha celular; até 2009 mais de 60 000 artigos haviam sido publicados, estando este número a aumentar a uma taxa de 300 artigos por mês.⁶¹

PDT – Princípios e Aplicações

A PDT é uma forma específica de fototerapia. O termo fototerapia inclui todos os tratamentos que usam a luz para induzir reações num paciente de modo a trazer-lhe benefícios. A PDT é uma técnica em desenvolvimento e o seu grande objetivo é destruir células indesejáveis (*e.g.* células cancerígenas), sem destruir tecidos saudáveis. Baseia-se no uso de um PS administrado ao paciente normalmente por injeção. O PS por si só não tem qualquer efeito tóxico nos tecidos. Contudo, se for aplicada luz no tecido contendo o fármaco, o PS é ativado e o tecido é rapidamente destruído no local onde a luz é aplicada.

Se for escolhida a radiação certa, a técnica pode ser bastante seletiva relativamente ao tecido destruído. Será também conveniente que o PS se concentre seletivamente no tecido tumoral e/ou tecido hiperproliferativo. A maior desvantagem deste método advém da utilização de PS que também se concentram na pele, pelo que o paciente não se poderá expor à luz durante períodos mais ou menos longos.⁶²⁻⁶⁴

É importante também referir que em PDT não é necessário apenas fármaco e luz; é fundamental a presença de O₂. Define-se então PDT como o processo de destruição de tecidos vivos pela combinação de PS, luz e O₂, num processo denominado de fotossensibilização. Este processo foi já descrito aprofundadamente na primeira secção deste capítulo, onde se contemplaram os processos de geração de ¹O₂.

A formação de ¹O₂ está, portanto, diretamente relacionada com a morte celular. A eficiência do processo de fotoinativação está dependente da presença de oxigénio molecular, e a eficiência com que um PS transfere energia do seu estado tripleto para o ³O₂, gerando ¹O₂ (rendimento quântico de ¹O₂, ϕ_{Δ}) é uma das propriedades chave de um composto PS. Por isso, o mecanismo do tipo II é considerado como predominante no processo fotodinâmico.⁶²⁻⁶⁴

No entanto, a taxa de produção de ¹O₂, não é a única variável a ter em conta para o sucesso de um tratamento de PDT. Um dos aspetos críticos na aplicação de PS em PDT é a necessidade de absorção por parte do PS na região 630-800 nm. Este é o intervalo de λ que permite uma boa penetração de luz nos tecidos (3-8 mm, ou mais), sem danos colaterais. É ainda conveniente que o PS apresente baixa agregação e boa solubilidade em meios fisiológicos; elevada seletividade para células/tecidos tumorais; baixa toxicidade no escuro; rápida metabolização pelo organismo, reduzindo ao máximo o período fotossensível do paciente.

Os PS mais usados e estudados em PDT têm por base o núcleo porfirínico. Estes macrociclos, quando comparados com outros agentes fotodinâmicos, apresentam vantagens notórias, nomeadamente no que diz respeito à absorção de luz (400-800 nm), produção de ¹O₂ e seletividade. Alguns derivados deste tipo são já largamente utilizados na prática clínica, destacando-se as moléculas apresentadas na figura 3.19.

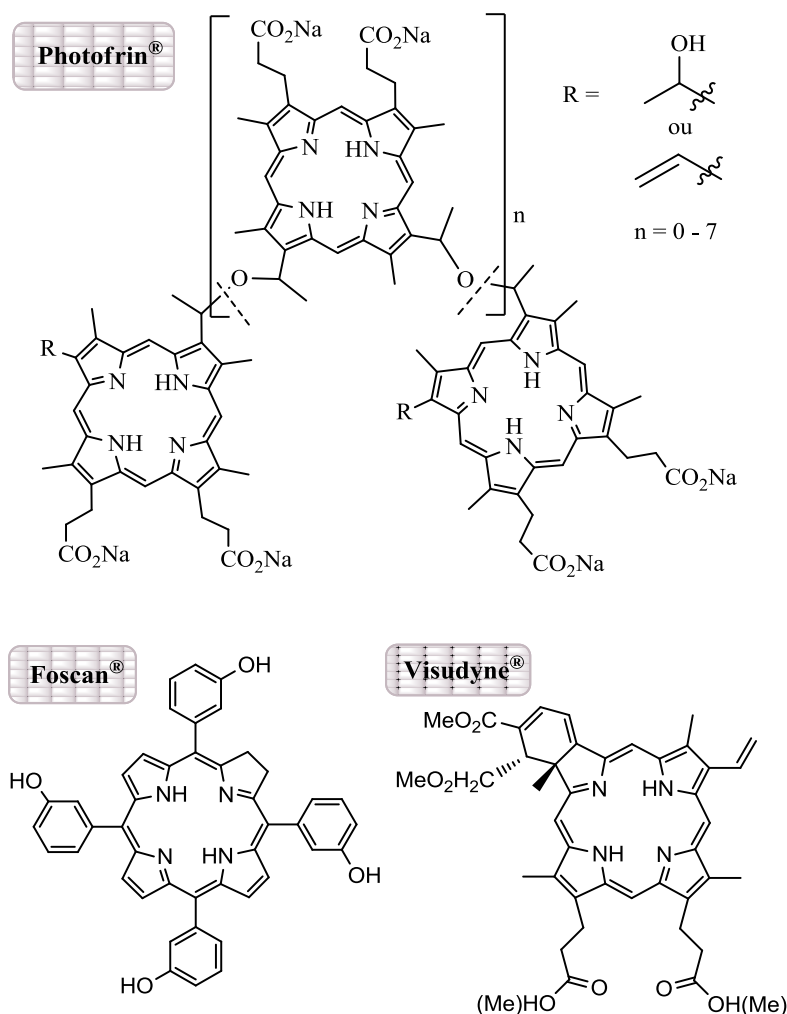


Figura 3.19. Estruturas de alguns PS comerciais

No entanto, ainda nenhum deles reúne todas as características necessárias a um tratamento via PDT perfeitamente inócuo, sendo crucial a continuação de investimento nesta área de investigação.

Têm sido muitos os estudos conduzidos com o objetivo de determinar o real mecanismo de ação de diversos PS em células tumorais. Mesmo sabendo que o $^1\text{O}_2$ é uma espécie determinante na efetividade, existem outros fatores que contribuem para o maior ou menor sucesso de cada molécula, existindo diferentes locais na célula ou tecido que podem ser afetados consoante a estrutura do macrociclo PS.

Quando os PS são lipofílicos ou aniônicos, os danos decorrentes do processo fotodinâmico ocorrem predominantemente nas membranas constituintes da célula, incluindo as do plasma, mitocôndria, lisossomas, núcleo e retículo endoplasmático. É típica a ocorrência de oxidação do colesterol e fosfolípidos, com consequentes alterações na permeabilidade membranar e inativação de enzimas e recetores. Existem claras evidências que a alteração dos sistemas de transporte membranares, despolarização da membrana plasmática e inibição de enzimas reparadoras de DNA conduzem à inativação de enzimas mitocondriais, evento que está extensamente relacionado com os processos de morte celular.⁶⁵

No caso dos PS catiónicos a sua acumulação é preferencialmente mitocondrial, sendo a sua ação direta no organelo o que determina e induz importantes processos de morte celular.⁶⁵

Os PS hidrofílicos acumulam-se preferencialmente nos lisossomas, o que leva à destruição destas estruturas e consequente libertação de enzimas hidrolíticas no citoplasma, o que parece constituir também um fator de letalidade.⁶⁵

2.1.3. PDT usando 1,3-Dioxopirrolporfirinas e Porfirina-2,3-dicarboxamidas como PS.

Como referido no tópico experimental anterior, o macrociclo porfirínico **37a** apresenta uma banda de absorção significativa em 700 nm, o que o tornou um alvo de interesse para estudos de atividade fotodinâmica. A partir desta nova plataforma de síntese foi também possível obter novos derivados porfirínicos β -substituídos, como foi o caso dos compostos **41a** e **43a**.

De notar ainda, que para avaliação biológica foram apenas considerados derivados não complexados, uma vez que os seus precursores contendo níquel, para além de apresentarem máximos de absorção a λ muito menores, poderão também representar um entrave em termos de produção de $^1\text{O}_2$, o que representaria decréscimos ou mesmo inexistência de atividade.

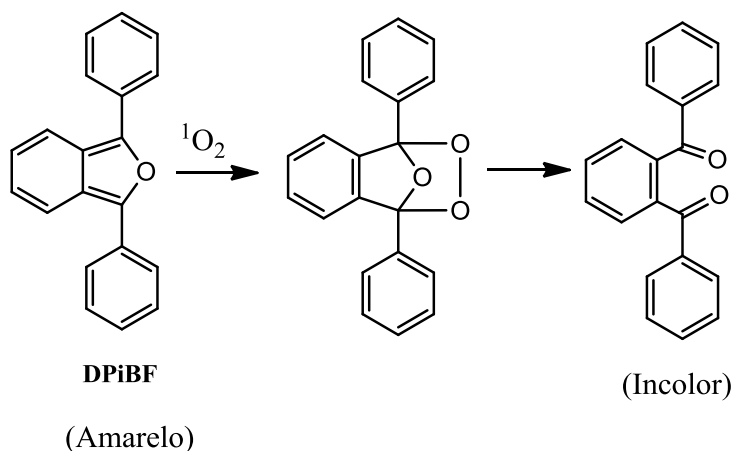
A escolha dos três derivados não complexados usados nesta secção prendeu-se com a relação estrutural existente entre eles e que numa primeira abordagem poderia responder a algumas questões importantes como:

- a) as novas 1,3-DPP apresentam atividade tumoral significativa?
- b) a presença do grupo 1,3-dioxopirrolilo influencia a ação fotodinâmica?
- c) a *N*-substituição influencia a atividade?

Geração relativa de 1O_2

Tendo em consideração a importância que a geração de 1O_2 assume na existência de atividade biológica, fez-se uma breve análise preliminar da produção relativa de 1O_2 usando como termo de comparação a porfirina não substituída **TPP**. Para isso, fez-se uso da reação desta espécie de oxigênio com o 1,3-difenil-isobenzofurano (**DPiBF**) (esquema 3.34.).

Os furanos são, em geral, compostos sensíveis à presença de 1O_2 , uma vez que sofrem facilmente reações do tipo cicloadição [4+2] com esta espécie. O **DPiBF**, composto que absorve radiação visível e apresenta um máximo de absorção a 415 nm, é convertido em *o*-dibenzoilbenzeno pelo 1O_2 (esquema 3.34.) e esta reação pode servir de base para a realização de um teste de determinação qualitativa de 1O_2 . A dicetona formada pela oxidação de **DPiBF** por 1O_2 não absorve na região visível do espectro de radiação e portanto a medida do decréscimo da absorvância numa solução de **DPiBF** permite avaliar a quantidade de 1O_2 produzida pelo PS presente.



Esquema 3.34.

Tendo por base os princípios do método do **DPiBF**, mediu-se o decréscimo de absorvância a 415 nm, resultado da transformação decorrente com o $^1\text{O}_2$. O solvente utilizado era constituído por numa mistura de DMF/H₂O na proporção 9:1. As medições espectrofotométricas da absorvância do **DPiBF** foram realizadas a uma concentração de 50 μM na presença de PS a 0,5 μM , com irradiação com luz de λ entre 550-800 nm e com uma potência de 9 mW/cm².

Os resultados obtidos foram organizados na forma de gráfico onde a absorvância de **DPiBF** a 415 nm foi apresentada em função do tempo de irradiação (Fig. 3.20.).

Para tornar possível a comparação de todos os dados recolhidos, a análise dos resultados obtidos relacionou os valores em termos de percentagem de absorvância de **DPiBF** durante 15 minutos de irradiação, com medições de minuto a minuto, sendo o declive da reta obtida, para cada PS, o indicador da quantidade relativa de geração de $^1\text{O}_2$ (Fig.3.20.).

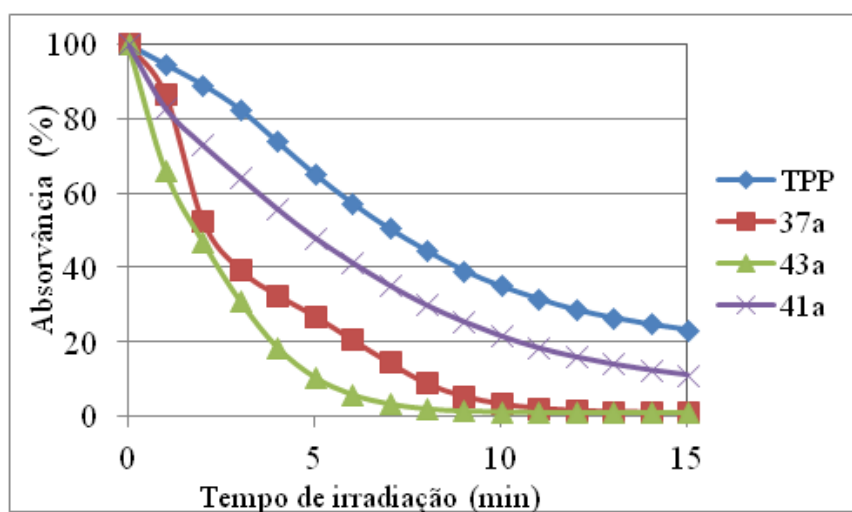


Figura 3.20. Percentagem de absorvância de DPiBF (415 nm) a 50 μM na presença de diferentes PS a 0,5 μM , durante 15 minutos de irradiação.

Na análise dos resultados deverá ter-se em atenção que quanto maior for a eficácia do PS, em termos de geração de $^1\text{O}_2$, maior será o declive da reta obtida.

De referir que o comportamento estacionário da absorvância observado para os compostos **37a** e **43a** a partir de um determinado tempo de irradiação pode ser explicada

como sendo devida ao seguinte fator: o λ em que se efetuaram as medições espectrofotométricas situa-se próximo do λ de absorção da banda Soret característica dos derivados porfirínicos, pelo que quando o decréscimo na absorvância de **DPiBF** é demasiado acentuado, a absorvância do próprio PS impede a visualização dessa mesma diminuição.

Da observação do gráfico representado na figura 3.20., tornou-se óbvio que, de entre os PS analisados, foram as duas 1,3-DPP **37a** e **43a** que se mostraram mais eficientes na geração de $^1\text{O}_2$, pelo que este representou um dado que fez prever uma atividade fotodinâmica significativa por parte das referidas porfirinas. Seguiu-se a 2,3-dicarboxamida **41a**, que apesar de ser menos eficiente que os seus derivados **37a** e **43a**, ainda assim, demonstrou uma maior taxa de produção de $^1\text{O}_2$ relativamente à **TPP**.

Sabendo da literatura que a **TPP** apresenta uma atividade fotodinâmica significativa,⁶⁶ os resultados obtidos sugeriram que o mesmo se poderia verificar com as porfirinas β -substituídas sintetizadas, com a vantagem de estas últimas apresentarem propriedades fotofísicas mais favoráveis à sua utilização em PDT.

Atividade fotodinâmica das porfirinas 37a, 41a e 43a

Com o objetivo de avaliar a potencial atividade em PDT das porfirinas **37a**, **41a** e **43a**, efetuaram-se alguns ensaios preliminares sobre duas linhas celulares imortais – HaCaT e HeLa.

Estes estudos foram realizados ao abrigo de uma colaboração com o grupo da Prof. Angeles Juarranz do Departamento de Biologia da Universidade Autónoma de Madrid. O trabalho encontra-se ainda em curso, pelo que serão apenas apresentados os resultados obtidos durante um estágio neste grupo, sob orientação do Prof. Francisco Sanz.

Apresentam-se a seguir os procedimentos e as técnicas utilizadas nos ensaios biológicos, bem como a discussão dos resultados obtidos.

Incorporação dos PS em lipossomas

Atendendo às características hidrofóbicas dos compostos selecionados, o primeiro passo efetuado teve por objetivo permitir que os compostos se mantivessem em suspensão estável no meio aquoso de cultura utilizado na realização dos tratamentos fotodinâmicos. Para tal, a estratégia escolhida consistiu na incorporação dos PS em vesículas de lipossomas (LP) de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC). Esta opção teve por base estudos prévios que demonstraram que a incorporação de PS em LP induz um aumento significativo do efeito fotodinâmico em células tumorais, uma vez que se regista um incremento da acumulação dos agentes terapêuticos nas células selecionadas.⁶⁷

A incorporação do PS em LP começou por feita por adição de 0,265 mL de uma solução de PS (0,5 mg) em piridina (1 mL) a 0,735 mL de uma solução de DPPC (10,5 mg) em etanol absoluto (1 mL).

De seguida, adicionou-se, gota a gota, 0,75 mL da mistura anterior a 10 mL de uma solução tampão de fosfato salino (PBS) mantido a 55 °C (temperatura de transição dos LP), sob agitação magnética.

Posteriormente, a suspensão de PS já incorporado em DPPC, foi submetida a diálise utilizando uma solução de PBS (1%), de modo a retirar os solventes contaminantes, previamente usados. Finalmente, a suspensão de LP e PS (Fig. 3.21.) foi filtrada por um filtro Milipore de 0,22 µm de diâmetro de poro e armazenada a 4 °C e no escuro.

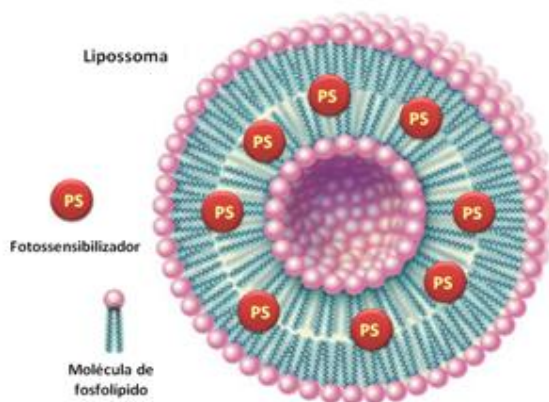


Figura 3.21. Representação esquemática de um LP contendo um PS hidrofóbico imobilizado.

Testes de viabilidade celular

Os testes de viabilidade celular na presença dos compostos **37a**, **41a** e **43a** incorporados em LP, foram realizados em duas linhas celulares distintas: linha celular HaCaT e linha celular HeLa.

O objetivo destes testes, foi o de avaliar e quantificar a atividade e especificidade *in vitro* de cada um dos derivados para células tumorais, comparativamente com células saudáveis. De lembrar que a linha celular HaCaT foi produzida a partir de queratinócitos saudáveis enquanto que a linha celular HeLa foi obtida a partir de células de um tumor cervical.

Ambas as linhas celulares foram cultivadas em frascos de plástico F25, utilizando meio de cultura completo (Fig. 3.22.), a 37 °C, até apresentarem cerca de 60-70% de confluência, ou seja, até que a camada celular ocupou essa percentagem de espaço no frasco de cultivo.

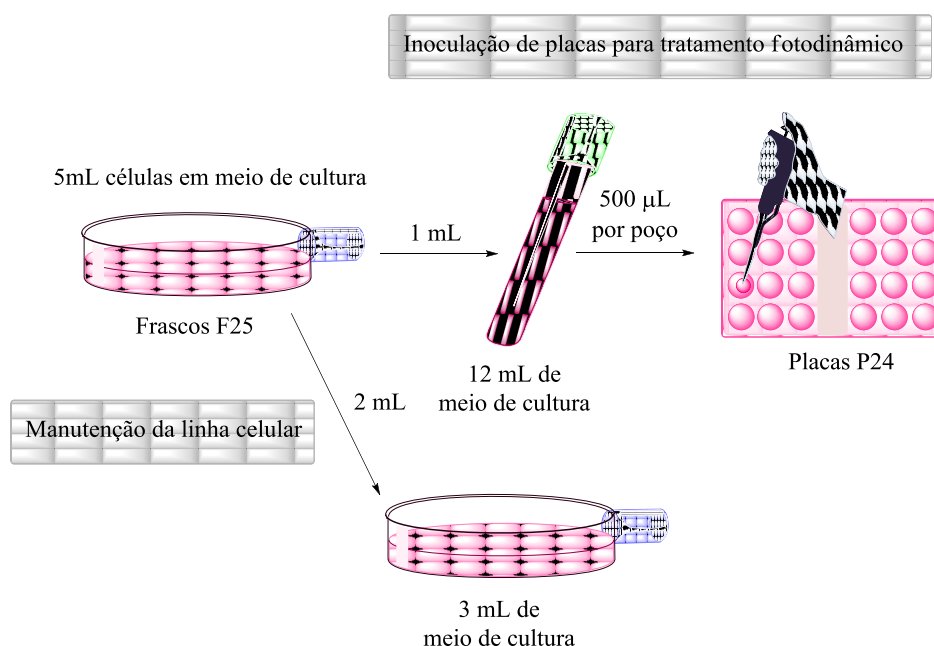


Figura 3.22. Representação esquemática dos procedimentos conduzidos para manutenção e inoculação das linhas celulares.

1,3-Dioxopirrolloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

Nesse momento, parte da cultura foi mantida em novos frascos F25 para prolongamento da linha celular, enquanto que a outra parte foi inoculada em placas P24, onde foram posteriormente realizados os testes de viabilidade celular (Fig. 3.22.). As células de manutenção e as células inoculadas em placas foram também mantidas a 37 °C, até apresentarem cerca de 60-70% de confluência. Quando tal se verificou, seguiu-se a repetição de todo o procedimento anterior para a manutenção dos frascos F25 e tratamento fotodinâmico das células contidas nas placas P24.

O tratamento fotodinâmico foi levado a cabo utilizando concentrações de 10^{-6} e 10^{-7} M de PS em meio de cultura branco (Fig. 3.23.).

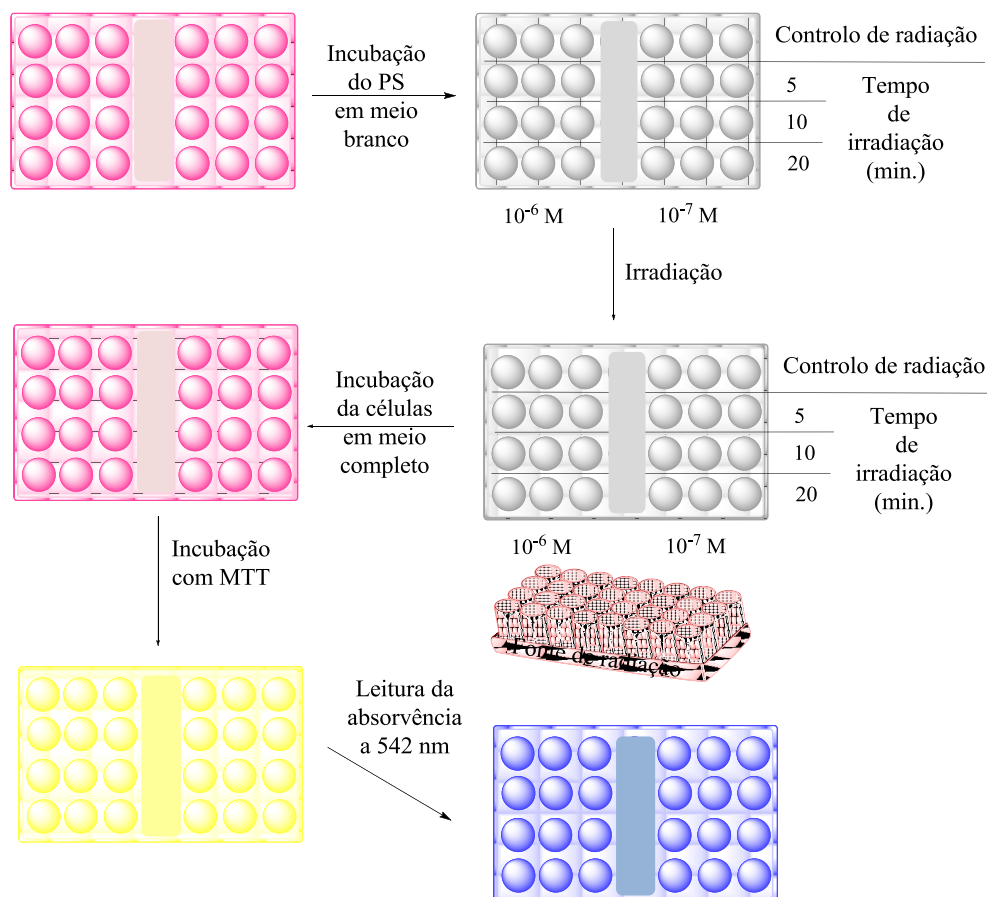


Figura 3.23. Representação esquemática dos procedimentos de tratamento fotodinâmico e teste de viabilidade celular com MTT.

1,3-Dioxopirrolporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

Cada porfirina foi incubada no escuro durante 4 horas com cada uma das linhas celulares, de modo a que fosse possível a localização/incorporação do PS nas mesmas células.

Ao fim deste tempo, a placa P24 foi irradiada durante 5, 10 e 20 minutos com luz de $\lambda = 647 \pm 15$ nm e $9,15 \text{ mW/cm}^2$ de potência (Fig. 3.23.). Relembrando os espectros de UV-Vis dos derivados considerados neste tópico (Fig. 3.24.), podemos verificar que no intervalo de λ da radiação usada todas as porfirinas absorvem e este facto motivou a utilização desta fonte de irradiação.

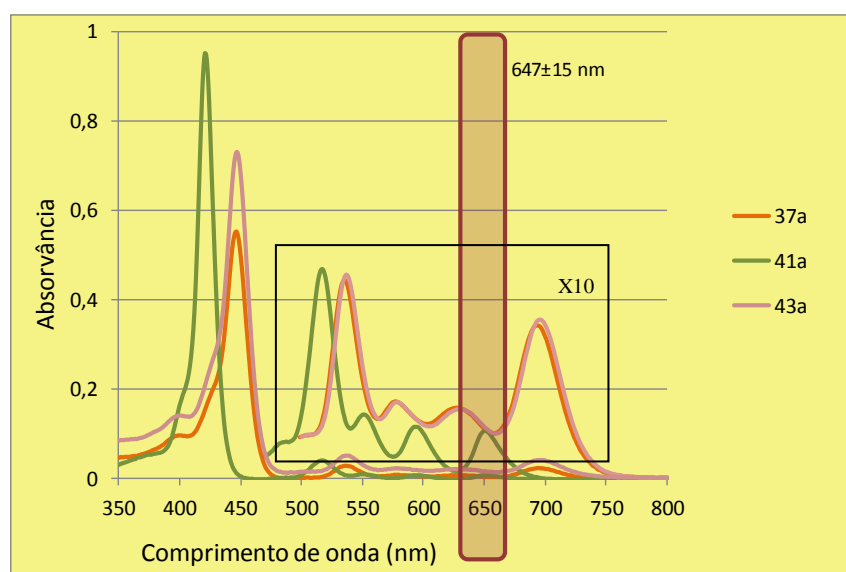


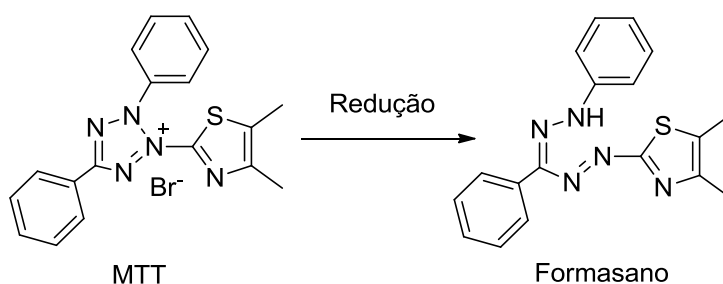
Figura 3.24. Espectros de UV-Vis dos compostos 1,3-DPP **37a**, **41a** e **43a** a $3,0 \mu\text{M}$ em DMSO, com assinalamento da zona a que foram irradiados nos ensaios biológicos.

Em cada um dos ensaios foram efetuados dois controlos:

- controlo total, em que se avaliou a viabilidade celular na ausência de PS e de radiação e
- controlo do efeito da irradiação, em que se estimou a viabilidade celular na ausência de PS, mas na presença de radiação (Fig. 3.23.).

Após irradiação, a solução de PS foi substituída por igual volume de meio completo (500 µL), e as diferentes amostras celulares foram incubadas durante 24 horas (Fig. 3.23.).

Findo o tempo de incubação, foram efetuados os ensaios de viabilidade celular, usando o teste com o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT). Este teste baseia-se na reação de redução do MTT ao respetivo formazano (esquema 3.35.).



Esquema 3.35.

Uma vez que o MTT possui uma coloração amarela e o correspondente formazano uma cor roxa, é possível medir a quantidade de produto reduzido formado através da leitura da absorvância a 542 nm. A quantidade de formazano formado é diretamente proporcional à viabilidade celular, uma vez que a redução acima referida é catalisada por desidrogenases mitocondriais e outras enzimas citoplasmáticas, que apenas atuam quando a célula está num estado viável.⁶⁸

Assim sendo, incubaram-se as diferentes amostras celulares com uma solução de MTT em meio branco durante 3 horas, a 37 °C (Fig. 3.23.).

Ao fim deste tempo, observou-se a formação de um sólido de cor roxa, o formazano, em todos os poços contendo células viáveis. Procedeu-se à remoção do meio contendo MTT e adição de igual volume (500 µL) de DMSO, para permitir a dissolução do formazano formado. A absorção das diferentes amostras foi lida a 542 nm (Fig. 3.23.).

Todo o procedimento atrás descrito foi levado a cabo com a linha celular saudável HaCaT e a linha tumoral HeLa. Cada experiência conduzida no mesmo dia, foi efetuada com três réplicas, sendo que cada ensaio para cada PS foi repetido três vezes em dias diferentes. Os valores que a seguir se apresentam são o resultado da média de três ensaios,

cada um com três réplicas. Os dados foram organizados na forma de gráfico, tendo sido agrupados por PS e respetiva concentração usada. No mesmo gráfico foram colocados os resultados obtidos para as duas linhas celulares às mesmas condições, para melhor visualizar a eficácia e especificidade de cada PS.

A salientar que não se registaram quaisquer diferenças significativas entre os dados do controlo total e do controlo de irradiação, pelo que todos os cálculos percentuais foram efetuados em relação aos valores do controlo total em cada ensaio.

Iniciaram-se os estudos de atividade fotodinâmica usando a 1,3-DPP **37a**, uma vez que foi este o PS a demonstrar uma maior geração relativa de $^1\text{O}_2$, estando os resultados explicitados na figura 3.25.

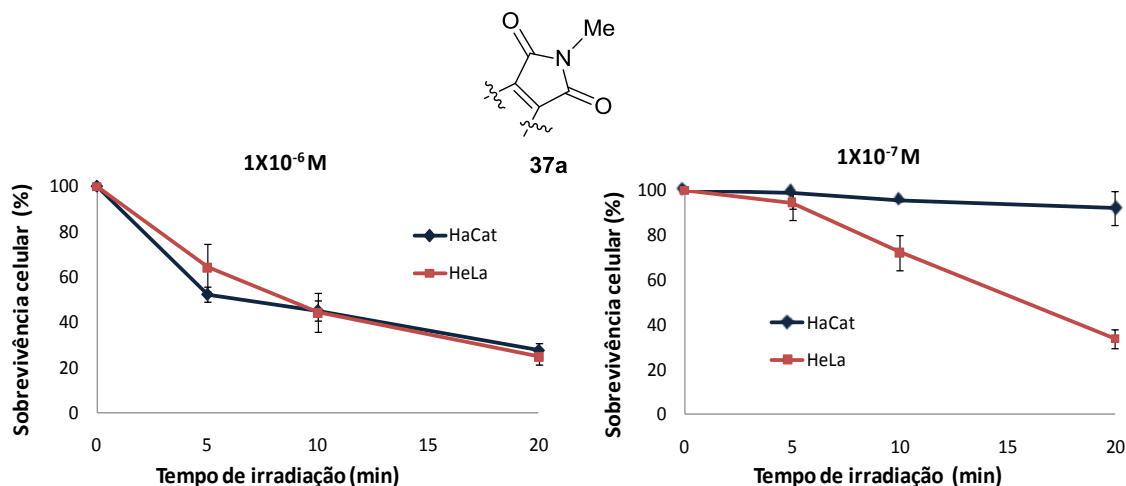


Figura 3.25. Gráficos de sobrevivência celular em função do tempo de irradiação das linhas celulares HaCaT e HeLa quando tratadas com o PS **37a**, às concentrações de 10^{-6} e 10^{-7} M .

Para ambas as concentrações, o maior decréscimo na sobrevivência celular foi observado ao maior tempo de irradiação usado (20 minutos). Contudo, a concentração foi uma variável determinante da eficácia do tratamento fotodinâmico, tanto em termos de redução da viabilidade celular como em termos de especificidade.

Verificou-se que aquando do uso da concentração 10^{-6} M , ocorreu um decréscimo na sobrevivência celular de $73 \pm 3\%$ na linha celular HaCaT e de $75 \pm 4\%$ na linha celular HeLa

ao fim de 20 minutos de irradiação. Apesar de esta representar uma diminuição bastante satisfatória da linha tumoral usada, há que ter em conta que ao mesmo tempo ocorreu uma redução análoga na linha celular saudável. Estes resultados indicaram, que à concentração 10^{-6} M o composto **37a**, não apresenta qualquer tipo de especificidade quando comparados os dois tipos de células usadas.

Por este motivo, decidiu-se testar o efeito do mesmo PS a uma concentração mais baixa (10^{-7} M). A mudança desta variável traduziu-se na obtenção dos resultados desejados. Desta forma, e após 20 minutos de irradiação, verificou-se um decréscimo não significativo de $8\pm 8\%$ na linha saudável HaCaT, contra uma redução de $66\pm 4\%$ na viabilidade celular da linha tumoral HeLa. A redução de viabilidade da linha tumoral à menor concentração usada, mantém-se dentro do intervalo de valores sub-letais (40-70%), sem que a viabilidade da linha saudável seja afetada. Estes resultados animadores, demonstraram inequivocamente a potencialidade de macrociclos 1,3-DPP e a importância de todo o trabalho conduzido na obtenção e funcionalização deste tipo de derivados.

Face aos dados obtidos com a porfirina **37a**, decidiu-se avaliar a influência da *N*-substituição na atividade fotodinâmica. Como tal, tirando partido do método atrás enunciado, testou-se o efeito da 1,3-DPP **43a** nas duas linhas celulares anteriormente descritas, fazendo uso das mesmas concentrações, encontrando-se os resultados obtidos na figura 3.26.

De facto, o PS **43a** apresentou diferenças marcantes na sua atividade fotodinâmica relativamente ao obtido com o PS **37a**, nomeadamente no que diz respeito à eficácia e especificidade.

Neste caso, a uma concentração de 10^{-6} M, e após 20 minutos de irradiação, registou-se um decréscimo de $35\pm 10\%$ na viabilidade celular da linha HaCaT, contra uma diminuição de $75\pm 4\%$ na sobrevivência da linha celular HeLa. Estes dados indiciam que, para a maior concentração usada, a 1,3-DPP **43a** é mais específica para células tumorais que o seu precursor **37a**.

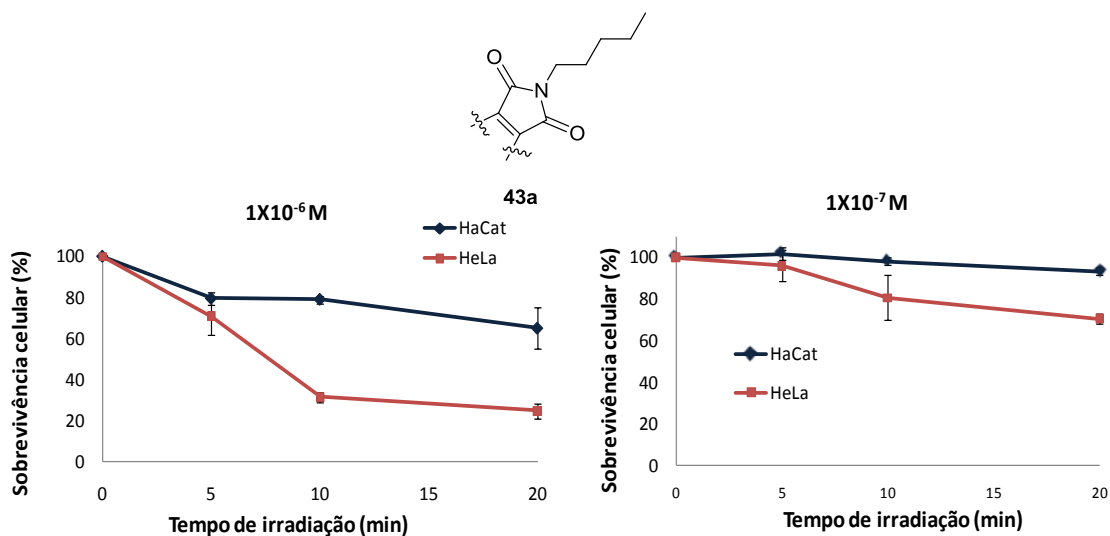


Figura 3.26. Gráficos de sobrevivência celular em função do tempo de irradiação das linhas celulares HaCaT e HeLa quando tratadas com o PS **43a**, às concentrações de 10^{-6} e 10^{-7} M.

Aquando da utilização da menor concentração (10^{-7} M), os resultados foram comparáveis para os dois PS no que diz respeito à influência dos mesmo em células HaCaT, com um decréscimo pouco significativo de $7\pm 2\%$ aquando da exposição ao derivado **43a**. Todavia, registaram-se enormes diferenças entre os dois compostos, relativamente à sua ação na linha celular HeLa, com a 1,3-DPP **43a** a induzir uma diminuição de apenas $30\pm 2\%$ nessas mesmas células a uma concentração de 10^{-7} M.

Este conjunto de dados leva-nos a admitir que a *N*-substituição das 1,3-DPP possa ter um papel preponderante na atividade fotodinâmica das mesmas, facto que, no futuro, nos poderá conduzir à manipulação química dessa posição de modo a obter derivados funcionalizados consoante o alvo biológico.

Por fim, pretendeu-se avaliar se a existência do grupo 1,3-dioxopirrolilo era fundamental para a existência de atividade, ou seja, se a presença de dois grupos amida em posições adjacentes se traduzia também em valores de atividade fotodinâmica similares. Para isso avaliou-se a ação da porfirimina **41a** nas linhas celulares HaCaT e HeLa, às concentrações de 10^{-6} e 10^{-7} M, durante 20 minutos de irradiação, estando os resultados sumariados na figura 3.27.

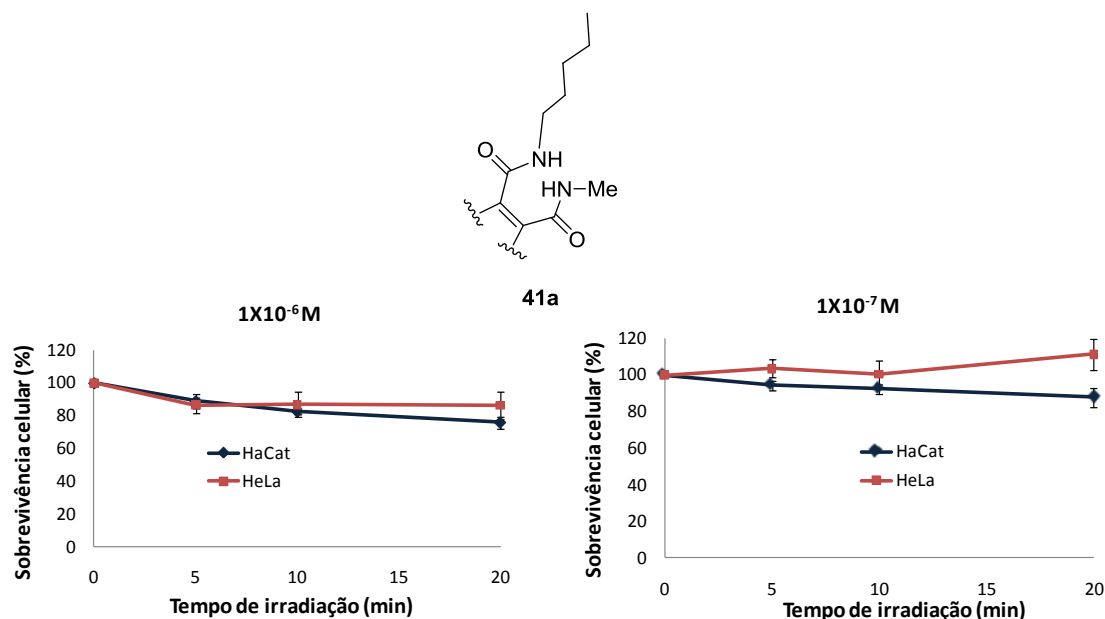


Figura 3.27. Gráficos de sobrevivência celular em função do tempo de irradiação das linhas celulares HaCaT e HeLa quando tratadas com o PS **41a** às concentrações de 10^{-6} e 10^{-7} M.

Surpreendentemente a dicarboxamida **41a** não mostrou qualquer tipo de efeito fotodinâmico significativo em ambas as linhas celulares, às duas concentrações estudadas. Chegou mesmo a registrar-se uma maior ação, ainda que ligeira, da porfirina **6a** nas células HaCaT, tendência que se verificou para as duas concentrações testadas.

Estes dados adicionais realçaram algumas das conclusões que foram vindo a ser inferidas, com cada conjunto de resultados. Neste momento do trabalho e com os dados disponíveis, foi possível responder às três questões que nos propusemos resolver no início deste tópico. Como tal, podemos afirmar que:

- as novas 1,3-DPP apresentam uma atividade tumoral bastante pronunciada, podendo ser consideradas potenciais candidatas para aplicação em PDT,
- a presença do grupo 1,3-dioxopirrolilo é essencial para a existência de atividade
- a *N*-substituição desse mesmo grupo poderá representar uma excelente estratégia para manipulação e maximização da atividade fotodinâmica.

Contudo, havia uma questão de extrema importância que necessitava de ser respondida, e que se relacionava com a influência *per si* dos PS **37a** e **43a**, nas células HeLa, ou seja na ausência de luz. Este dado, constitui um fator de elevado interesse, visto que a ação do PS na presença de luz está relacionada com a produção, por parte deste, de $^1\text{O}_2$. Na ausência de luz, não havendo produção de espécies reativas que induzam a morte celular, tem que ser assegurado que o PS não induz qualquer tipo de crescimento nas células tumorais. Mais ainda, este teste visa fornecer informações úteis sobre os mecanismos efetivos de diminuição da viabilidade celular da linha tumoral estudada, uma vez que poderá assegurar que o PS não apresenta toxicidade significativa.

Desta maneira, foram efetuados os ensaios de viabilidade celular para as 1,3-DPP **37a** e **43a**, nas mesmas condições atrás descritas, contudo o período de irradiação foi substituído por um período adicional de incubação de 20 minutos. Os resultados obtidos estão explicitados na tabela 3.3.

Tabela 3.3. Sobrevivência celular da linha celular HeLa quando tratadas com os PS **37a** e **43a**, às concentrações de 10^{-6} e 10^{-7} M, na ausência de luz.

Concentração (M)	Sobrevivência (% \pm DP) de células HeLa	
	37a	43a
$1,0 \times 10^{-7}$	97,9 \pm 9,2	99,1 \pm 0,6
$1,0 \times 10^{-6}$	95,9 \pm 6,3	99,1 \pm 1,3

Os testes de viabilidade celular mostraram que as duas 1,3-DPP não tiveram qualquer influência significativa na viabilidade das células HeLa.

Estes dados permitem inferir que poderá ser segura a utilização deste PS após o tratamento com irradiação, uma vez que se o paciente se mantiver em ambiente com luz controlada, não ocorrerá crescimento das células tumorais.

Por outro lado, este teste confirmou o mecanismo fotodinâmico dos derivados, uma vez que na ausência de luz, os PS não são tóxicos.

Testes de localização do PS

Tendo em consideração os resultados obtidos nos ensaios de viabilidade celular que demonstraram que o composto **37a** foi o mais eficaz e seletivo na fotoinativação de células tumorais do tipo HeLa, idealizou-se estudar mais aprofundadamente a forma de atuação deste PS.

Neste contexto, decidiu-se estudar a localização celular do derivado **37a**, nas linhas HaCaT e HeLa.

Alguns autores defendem que a localização dos PS pode contribuir com importantes informações acerca do tipo de morte celular, isto é, se ocorre por necrose ou apoptose.⁶⁹ No entanto, esta relação nem sempre é verificada, existindo inúmeros fatores que podem conduzir a análises errôneas, nomeadamente um fenómeno que é reportado por alguns autores, e que consiste na realocização do PS durante o processo de irradiação.⁶⁹ Neste sentido, os resultados que a seguir se apresentam são meramente exploratórios e pretendem, nesta primeira fase, apenas contribuir para um conhecimento mais detalhado do comportamento do PS em estudo durante diferentes períodos de incubação.

Para os estudos de localização celular do PS **37a** escolheu-se a concentração de 10^{-7} M, uma vez que foi a esta concentração que a 1,3-DPP **37a** conseguiu unir efetividade e especificidade. Os ensaios foram conduzidos em placas de P6, que foram previamente munidas de lamelas, para proporcionar o crescimento celular num local que pudesse ser facilmente removido para observação ao microscópio. Antes desta observação as células foram lavadas três vezes com PBS, com o objetivo de remover o PS que não tivesse sido incorporado pela célula, sendo no final, a lamela colocada e fixada numa lâmina. Por fim as células presentes na lâmina foram analisadas por microscopia de fluorescência usando luz azul.

Os resultados obtidos às 2, 4, 6 e 24h de incubação do composto **37a** em células HaCaT e HeLa são apresentados na figura 3.28., sendo os locais onde a localização é mais proeminente assinalados com setas.

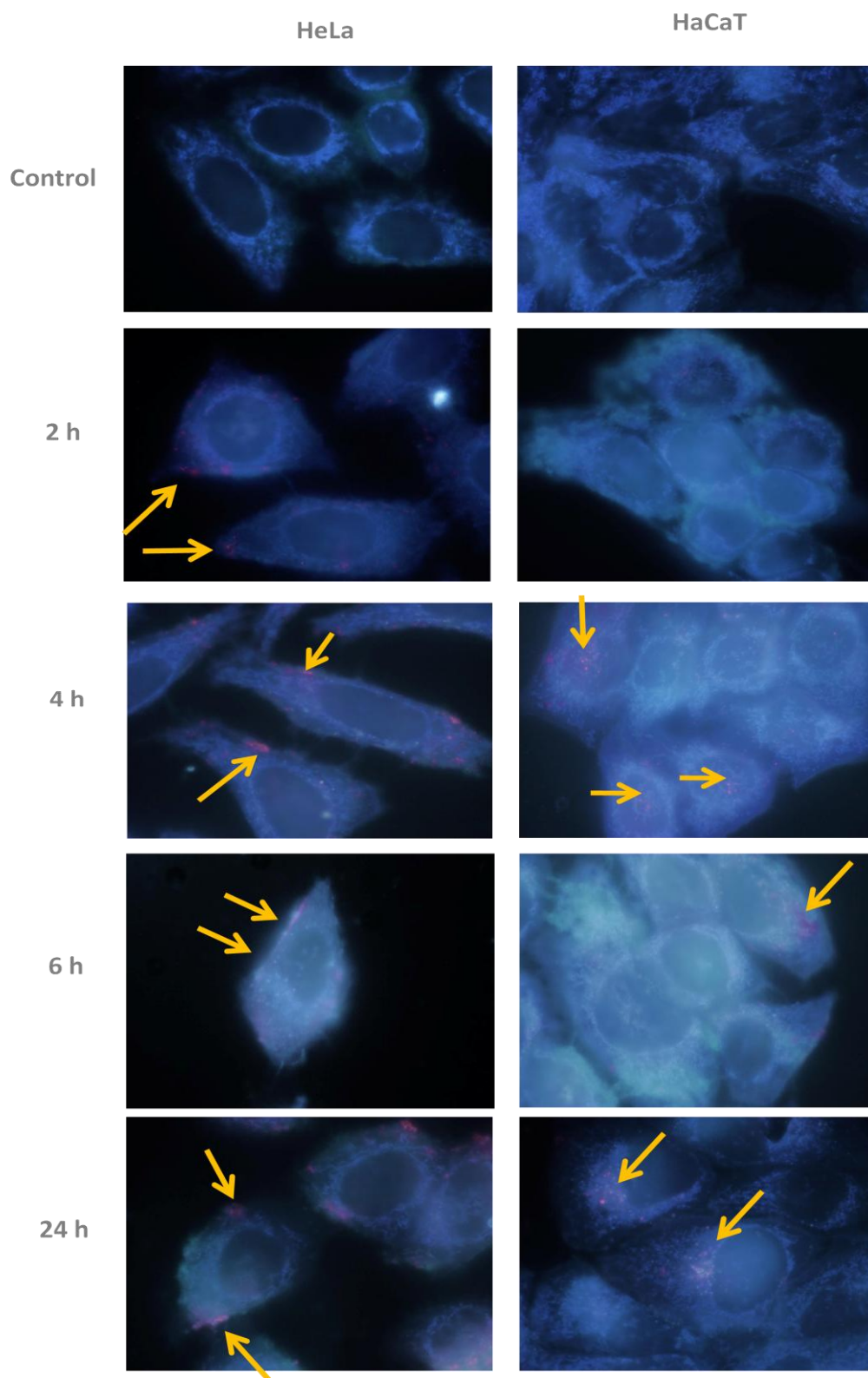


Figura 3.28. Fotografias tiradas durante os ensaios de localização sub-celular a diferentes tempos de incubação do PS **37a**, nas linhas celulares HeLa e HaCaT.

Observou-se que em células HeLa a localização do PS foi quase exclusivamente membranar, o que poderá indicar que a morte celular ocorre por necrose. No entanto, esta assumpção é meramente especulativa. Por um lado, inúmeros fatores, como a irradiação, poderão contribuir para uma redistribuição do PS; por outro lado, verificando-se a localização membranar mesmo após a irradiação, outros fatores ainda a estudar poderão conduzir a uma morte apoptótica.

Em ambas as linhas celulares foi também realizado um controlo onde não houve adição de PS. Estes ensaios foram repetidos duas vezes, tendo sido escolhidas as melhores fotos dos dois ensaios. Nas duas experiências independentes o padrão de localização manteve-se em todos os casos.

No caso das células HaCaT a acumulação do PS foi predominantemente lisossomal. Estudos adicionais terão também que ser conduzidos de modo a justificar a acumulação do PS, sem que este induza alterações significativas na viabilidade celular.

Adicionalmente ao local onde o PS se situou, também a quantidade de PS localizado variou consoante a linha celular. No caso das células HeLa, logo ao fim de 2 horas de incubação, observou-se grande quantidade de PS localizado na membrana, enquanto que, para o mesmo tempo de incubação, não se registaram diferenças significativas nas células HaCaT em relação ao respetivo controlo sem PS. Ao fim de 4 horas de incubação registou-se acumulação do PS em ambas as linhas celulares, sendo que no caso das células HeLa a acumulação parece ocorrer em maior quantidade.

Aos tempos de incubação de 6 e 24 horas não se registaram diferenças significativas de acumulação, parecendo apenas que há um ténue aumento gradual de PS acumulado ao longo do tempo para a linha HeLa e uma ligeira diminuição para a linha HaCaT.

Este último dado, relativo a uma redução progressiva de PS nas células HaCaT, poderá constituir um dado de interesse, pois fornece uma primeira indicação de que o PS é metabolizado pelas células saudáveis, ao fim de tempos relativamente curtos.

Testes morfológicos

Por fim, foi realizado um teste morfológico, com azul de toluidina, às duas linhas celulares submetidas ao tratamento fotodinâmico com o agente antitumoral **37a**. Este teste tem dois objetivos principais:

- a) validar os ensaios de viabilidade com MTT,
- b) observar dos efeitos do tratamento fotodinâmico na morfologia geral da célula.

Tal como nos ensaios de localização, escolheu-se a concentração de 10^{-7} M, uma vez que foi a esta concentração que a 1,3-DPP **37a** mostrou maior efetividade e especificidade. Os ensaios foram conduzidos em placas P6, que foram previamente munidas de lamelas, para proporcionar o crescimento celular num local que pudesse ser facilmente removido para observação ao microscópio. Após o tratamento fotodinâmico com o PS **37a**, durante 5 e 20 minutos, as células foram fixadas nas lamelas com metanol a -20 °C. Terminado este processo, foram deixadas a secar à temperatura ambiente, tendo depois sido coradas com uma solução de azul de toluidina (TBO) em água. Foi ainda realizado um controlo para ambas as linhas celulares em que as células não foram submetidas a qualquer tipo de tratamento. Os ensaios morfológicos com TBO foram repetidos duas vezes, tendo sido escolhidas as melhores fotos dos dois ensaios. Nas duas experiências independentes o padrão de dano morfológico manteve-se em todos os casos.

Os resultados obtidos estão representados na figura 3.29. Observou-se que após o tratamento fotodinâmico, em condições sub-letais, as células HeLa sofreram retração e intensa vacuolização citoplasmática, processo que é normalmente atribuído a processos degenerativos da célula. Estes efeitos começaram a observar-se ao fim de 5 minutos de irradiação, contudo, foi ao fim de 20 minutos de irradiação que os danos foram mais evidentes. Registou-se também ao último tempo de irradiação, uma diminuição no número de células observadas, o que pode ser justificado pelo facto de, a este tempo de irradiação, grande parte das células serem inviáveis e por isso deixaram de estar fixadas na lamela;

durante a remoção do MeOH, usado na fixação, grande parte das células foram também removidas.

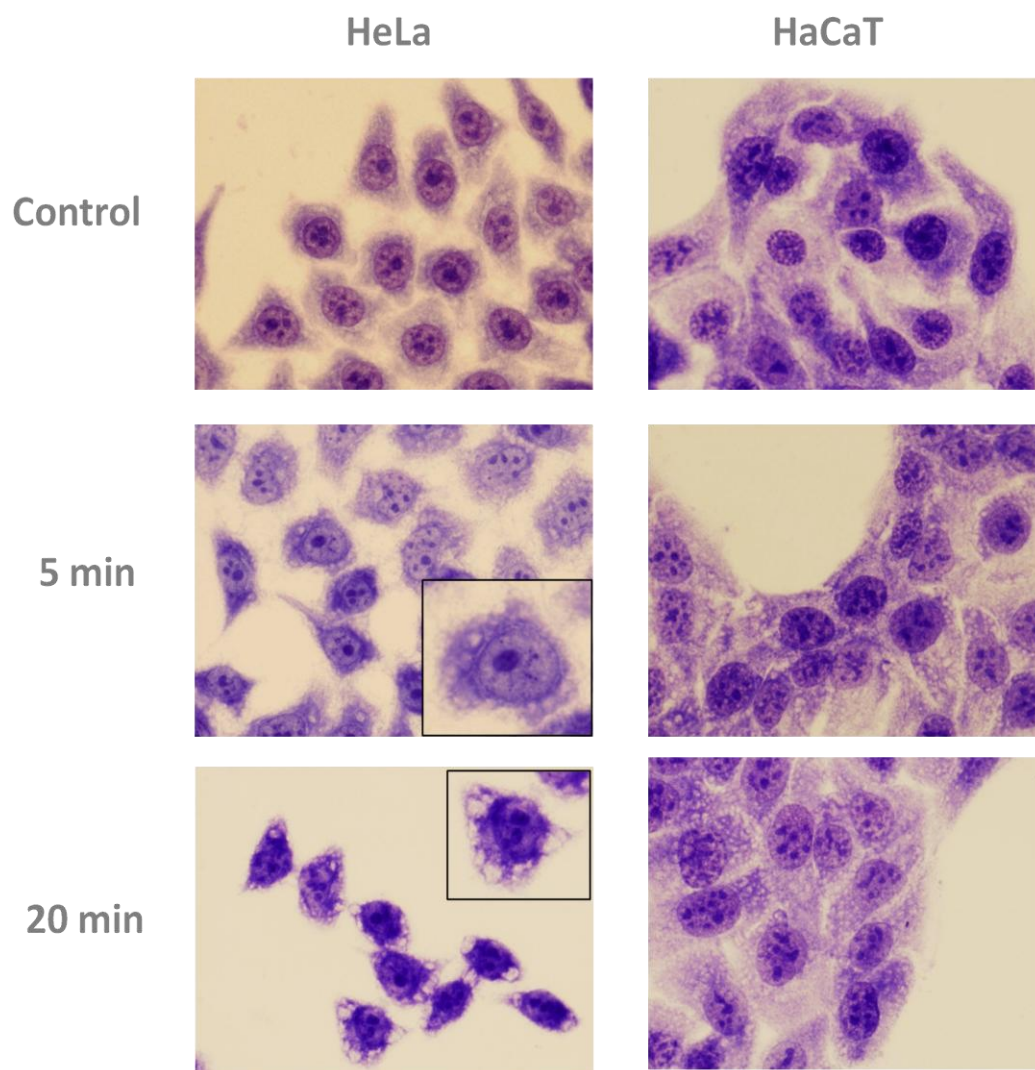


Figura 3.29. Fotografias tiradas de células HeLa e HaCaT fixadas com MeOH e coradas com TBO após tratamento fotodinâmico com o PS **37a**.

No que diz respeito às células HaCaT, não se registaram quaisquer alterações morfológicas aos tempos de irradiação testados. Estas observações confirmaram os testes de viabilidade com MTT, constituindo uma prova inequívoca de que as células saudáveis não sofreram qualquer dano aparente decorrente da atividade fotodinâmica da porfirina **37a**.

3.2.2.2. Procedimentos experimentais

Reagentes, meios de cultura, produtos e equipamento

O meio de cultura completo vermelho foi preparado a partir de meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium), ao qual se adicionou 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de antibiótico penicilina G-sulfato de estreptomicina. Para manutenção e inoculação as células foram desprendidas dos recipientes originais com ajuda de tripsina-EDTA 0,25:0,02%. O meio branco de cultura foi preparado a partir de meio DMEM ao qual se adicionou 1% de antibiótico. Todos os produtos usados eram da Gibco.

Todos os procedimentos foram conduzidos em condições estéreis numa câmara de fluxo laminar, fazendo uso de material estéril. A incubação a 37 °C foi levada a cabo num incubador termostatzado com 5% de CO₂.

As medições de absorvância a 542 nm nos ensaios de MTT foram realizadas num espectrofotómetro modelo Spectra Fluor 4 (TECAN).

As medições de absorvância a 415 nm nos teste de ¹O₂ foram realizadas num espectrófotómetro modelo Shimadzu UV-2501PC.

O sistema de irradiação usado nos ensaios biológicos consistiu num “array” de LEDs (Light Emission Diodes) composto por uma matriz de 24x16 LEDs (Kingbright, modelo L53 SRCE) com emissão de luz a $\lambda = 647 \pm 15$ nm e uma potência de 9,15 mW/cm⁻² (medida com um potenciómetro PAR 190 Li-1000, Li-Cor).

O sistema de irradiação usado para a determinação da produção de ¹O₂, foi uma fonte Lumacare modelo LC-122, constituída por uma lâmpada de halogénio 250 W acoplada a um feixe de fibra ótica de luz branca (400-800 nm). Usou-se um filtro com uma transmitância a comprimentos de onda superiores a 550 nm (filtro laranja), que foi colocado entre o feixe de luz branca e a amostra. A potência de radiação foi medida com um potenciómetro luminoso Spectra Physics, modelo 407 A, e com o sensor da mesma marca modelo 407A-2.

Geração relativa de 1O_2 – Método do DPiBF

Prepararam-se soluções “stock” dos PS **37a**, **41a** e **43a** de 10 mM e 0,1 mM em DMSO. Para o DPiBF foi preparada uma solução “stock” de 10 mM em DMSO.

Em células de vidro prepararam-se 2 mL de solução, contendo DPiBF (50 μ M) e PS (0,5 μ M) em DMF/H₂O 9:1.

As células foram irradiadas com luz de potência 9,0 mW.cm⁻² e λ = 550-800 nm. Durante a irradiação as soluções foram mantidas sob agitação magnética à temperatura ambiente.

Mediu-se a absorvância a 415 nm a cada 1 minuto durante 15 minutos.

A percentagem de redução, proporcional à produção de 1O_2 , foi calculada por comparação entre a absorvância inicial da solução ao tempo zero de irradiação e a absorvância registada ao fim de cada minuto de irradiação.

Manutenção e inoculação de culturas celulares

Foram usadas as linhas celulares HaCaT e HeLa.

As linhas celulares foram cultivadas em meio completo, a 37 °C e com 5% de CO₂.

Na manutenção das linhas celulares usaram-se frascos F25. Na inoculação para ensaios fotodinâmicos usaram-se placas P24 nos ensaios de viabilidade com MTT e placas P6 nos testes de localização e morfologia. As placas P6 foram previamente munidas de lamelas esterilizadas.

A manutenção e inoculação foram levadas a cabo sempre que as células apresentaram uma confluência de 60-70%. Nesse momento procedeu-se à descolagem das células da matriz constituinte do frasco de cultura, por aspiração do meio completo e adição de 1 mL de tripsina. Após permitir, por leve agitação manual, que a tripsina estivesse em contacto com toda a superfície celular, a tripsina foi aspirada. Esta primeira etapa teve como único objetivo a lavagem das células. Adicionou-se mais 1 mL de tripsina e desta vez promoveu-se a descolagem das células por agitação vigorosa manual. Após observação ao microscópio, para verificar se todas as células haviam sido descoladas,

adicionou-se 4 mL de meio completo vermelho. Uma vez que o frasco de cultivo, continha a esta altura 5 mL de suspensão de células, colheram-se 2 mL para um novo frasco de cultivo, ao qual foram previamente adicionados 3 mL de meio completo, e mais 3 mL para inoculação em placas. Os 3 mL retirados para inoculação foram distribuídos por 3 frascos cilíndricos estéreis (1 mL/frasco), onde haviam sido previamente colados 12 mL de meio completo vermelho. Cada frasco permitiu a distribuição da suspensão celular em placas de cultura, tendo sido colocados 500 µL/poço no caso das placas P24 e 2 mL/poço nas placas P6.

Incorporação dos PS em lipossomas

Prepararam-se as soluções “stock” de PS (0,5 mg em 1 mL de piridina) e de DPPC (10,5 mg em 1 mL de etanol absoluto). Misturou-se 0,265 mL de solução “stock” de PS com 0,735 mL de “stock” de DPPC. Um volume de 0,75 mL da mistura anterior foi adicionado, gota a gota, a 10 mL de PBS estéril previamente aquecido a 55 °C. Após arrefecimento à temperatura ambiente, a nova mistura foi dialisada em PBS a 1% durante 4 horas. Nos primeiros quatro intervalos de 30 minutos e nos dois últimos intervalos de 1 hora, a solução de PBS foi substituída. Finda a diálise, esterilizou-se a suspensão obtida com um filtro Milipore de 0,22 µm. Mediu-se o volume final obtido e armazenou-se esta suspensão “stock” no escuro, a 4 °C.

Para preparação das soluções usadas durante os tratamentos fotodinâmicos, usou-se meio branco para as respectivas diluições.

Tratamentos fotodinâmicos

Os tratamentos fotodinâmicos foram realizados em placas P24 ou P6, conforme o teste a executar. Os tratamentos foram levados a cabo apenas quando as células apresentaram 50-60% de confluência. Nesse momento o meio de cultura foi aspirado e as soluções preparadas em meio branco, com as concentrações pretendidas (10^{-6} e 10^{-7} M para teste de MTT e 10^{-7} M para ensaio morfológico e de localização), foram adicionadas às placas (500 µL/poço nas P24 e 2 mL/poço nas P6). No caso dos ensaios de viabilidade e morfologia as células foram incubadas, a 37 °C, com o PS durante 4 horas. Findo este

1,3-Dioxopirroloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

tempo, as placas foram irradiadas durante 0, 5, 10 e 20 minutos. Seguidamente, a suspensão de PS foi aspirada, foi adicionado igual volume de meio completo vermelho e as células foram incubadas por mais 24 horas a 37 °C. No caso dos testes de localização, as placas foram incubadas com o PS durante 2, 4, 6 e 24 horas.

Testes de viabilidade celular

Preparou-se uma solução “stock” de MTT em PBS (1%). Após esterilização por filtração, preparou-se uma solução em meio completo branco, contendo 10% de solução MTT em PBS. Esta solução (500 µL) foi adicionada às placas que foram deixadas a incubar durante 24 horas, após tratamento fotodinâmico. Sucedeu-se uma nova incubação a 37 °C com MTT, durante 3 horas. Ao fim deste tempo, a solução de MTT foi aspirada e foi adicionado igual volume de DMSO. Agitou-se mecanicamente, até que todo o formazano roxo formado estivesse dissolvido no DMSO. Registou-se a absorvância a 542 nm, num leitor de placas automático.

As medições de absorvância do controlo total (ausência de PS e de luz) foram tomadas como 100% de viabilidade celular e a partir destas calcularam-se as percentagens dos restantes controlos e testes fotodinâmicos.

Testes de localização do PS

Ao fim de cada tempo de incubação (2, 4, 6 e 24 horas), a suspensão de PS em meio branco foi aspirada e foi adicionado PBS para retirar o excesso de PS. Seguidamente as lamelas foram montadas em lâminas, com o auxílio de PBS e foram observadas por microscopia de fluorescência.

Testes morfológicos

As células aderidas às lamelas, que foram deixadas a incubar durante 24 horas após tratamento fotodinâmico, foram fixadas com MeOH absoluto a -20 °C durante 7 minutos. Após este tempo o MeOH foi aspirado e as lamelas foram deixadas a secar, dentro das placas, à temperatura ambiente. Seguidamente procedeu-se à coloração das células com solução de TBO (1 %) em água, adicionando esta solução a cada poço até que a lamela

1,3-Dioxopirroloporfirinas – Síntese, Reatividade e Atividade Biológica

estivesse completamente coberta com a mesma. Deixou-se repousar 5 minutos. Seguidamente, a solução de TBO foi aspirada e as lamelas foram lavadas sucessivas vezes com água. Finda a lavagem, as células foram deixadas a secar à temperatura ambiente. Posteriormente foram mergulhadas em xilol, montadas em laminas com o auxílio de DePEX e observadas ao microscópio com iluminação de campo claro.

3.3. Conclusões

O trabalho descrito neste capítulo permitiu concluir que a pirroloporfirina **1** reage com o $^1\text{O}_2$ através de uma reação do tipo cicloadição [4+2] originando a 1,3-DPP **37** em rendimento satisfatório (70%) Esta reação tem como principal intermediário a porfirina **38**. Através de um estudo sistemático das condições reacionais provou-se que a reação com o oxigénio ocorre via $^1\text{O}_2$.

A 1,3-DPP **37** sofre hidrólise parcial em meio básico originando o macrociclo β -substituído **39** com bom rendimento (84%). O derivado **39** é suscetível de sofrer descarboxilação com obtenção da amida **40** em rendimento moderado (52%).

A porfirina **37** reage com aminas alifáticas, nomeadamente a pentilamina e o 2-aminoetanol, originando as diamidas **41** e **42**, em rendimentos quantitativos. Estas diamidas constituem boas plataformas para a obtenção de 1,3-DPP com diferentes substituições no átomo de azoto do anel 1,3-dioxopirrolilo, nomeadamente os macrocilos **43** e **44**, em rendimentos moderados (38% e 31%, respetivamente).

As propriedades fotofísicas, nomeadamente os espectros de UV-vis, dos compostos **37-43** e das respetivas bases livres permitiram inferir acerca da elevada importância da presença do grupo 1,3-dioxopirrolilo para a existência de desvios batocrómicos acentuados, em particular a existência de uma banda Q a 700 nm no caso da 1,3-DPP **37a**.

A existência do grupo 1,3-dioxopirrolilo nos compostos **37a** e **43a** é também fundamental para a existência de uma maior atividade fotodinâmica, em células HeLa, quando comparados com o derivado **41a**. Este grupo funcional tem também um efeito determinante na especificidade dos compostos usados para células tumorais em comparação com células saudáveis.

Resta apenas referir o trabalho descrito neste capítulo relativo à síntese das diferentes porfirinas mencionadas deu origem a um artigo científico⁷⁰ e que o trabalho relativo à avaliação biológica dos compostos selecionados encontra-se em fase de preparação para publicação.

3.4. Referências

- [1] Shinkarenko, N.V.; Aleskovskii, V.B. *Russ. Chem. Rev.* **1981**, 50, 220-231.
- [2] Mullikan, R. S. *Phys. Rev.* **1928**, 32, 186-222.
- [3] DeRosa, M. C.; Crutchley, R. J. *Coord. Chem. Rev.*, **2002**, 233, 351-371.
- [3] DeRosa, M. C.; Crutchley, R. J. *Coord. Chem. Rev.*, **2002**, 233, 351-371.
- [4] Fritzsche, M. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris* **1867**, 69, 1035-1037.
- [5] Schaap, A. P. *Singlet Molecular Oxygen* **1976**, eds Dowden, Hutchinson and Ross; VanderWerf, C.A., Stroudsburg, Pennsylvania, USA.
- [6] Mulliken, R. S. *Nature* **1928**, 122, 504-505.
- [7] Childs, W. H. J., Mecke, R. Z. *Physik* **1931**, 68, 344-361.
- [8] (a) Kautsky, H. *Trans. Faraday Soc.* **1939**, 35, 216–219. (b) Kautsky, H.; de Bruijn, H. *Naturwiss.* **1931**, 19, 1043-1043. (c) Kautsky, H.; de Bruijn, H.; Neuwirth, R.; Baumeister, W. *Chem. Ber.* **1933**, 66, 1588–1600.
- [9] Ohloff, G. *Pure Appl. Chem.* **1975**, 43, 481-502.
- [10] Clennan, E. L. *Tetrahedron* **2000**, 56, 9151-9179.
- [11] Schweitzer, C.; Schmidt, R. *Chem. Rev.* **2003**, 103, 1685-1757.
- [12] Clennan, E. L.; Pace, A. *Tetrahedron* **2005**, 61, 6665-6691.
- [13] Zamadar, M.; Greer, A. *Handbook of Synthetic Photochemistry* **2010**, eds. Albini, A.; Fagnoni, M.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.
- [14] Griesbeck, A. G.; El-Idreesy, T. T.; Adam, W.; Krebs, O. *Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology* **2004**, eds. Horspool, W.; Lency F.; CRC Press; Boca Raton, EUA.
- [15] Dewar, M. J. S.; Thiel, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 2338-2339.

- [16] Paquette, L. A.; Cam, R. V. C.; Arnold, E.; Clardy, J. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 4907-4913.
- [17] Steliou, K.; Gareau, Y.; Milot, G.; Salama, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7819-7820 e respectivas referências.
- [18] Delogu, G.; Fabbri, D.; Fabris, F.; Sbrogiò, F.; Valle, G.; De Lucchi, O. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1887-1888.
- [19] Davis, K. M.; Carpenter, B. K. *J. Org. Chem.* 1996, 61, 4617-4622.
- [20] Mehta, G.; Subramanian, U. R.; Pramanik, A.; Chandrasekhar, J.; Nethajic, M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 677-678.
- [21] Mehta, G.; Uma, R. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 1685-1696.
- [22] Mehta, G., Uma, R.; Jagadeesh, M. N.; Chandrasekhar, J. *Chem. Commun.*, **1998**, 1813-1814.
- [23] Adam, W.; Prein, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 3766-3767.
- [24] Adam, W.; Peters, E. M.; Peters, K.; Prein, M.; von Schnering, H. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 6686-6690.
- [25] Maranzana, A.; Ghigo, G.; Tonachini, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 1414-1423.
- 26 (a) Pierlot, C.; Poprawski, J.; Marko, J.; Aubry, J.-M. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 5063-5067. (b) Brecht, R.; Büttner, F.; Böhm, M.; Seitz, G.; Frenzen, G.; Pilz, A.; Massa, W. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 2911-2917. (c) Griesbeck, A. G.; Bartoschek, A. *Chem. Commun.* **2002**, 1594-1595. (d) Griesbeck, A. G.; El-Idreesy, T. T.; Bartoschek, A. *Adv. Synth. Catal.* **2004**, 346, 245-251. (e) Linker, T.; Krüger, T.; Hess, W.; Hilt, G. *ARKIVOC* **2007**, viii, 85-96. (f) Maeda, H.; Nanai, Y.; Mizuno, K.; Chiba, J.; Takeshima, S.; Inouye, M. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 8990-8993. (g) Hanamura, M.; Kamada, J.; Amano, A.; Takeuchi, K.; Okazaki, T.; Hirai, K.; Kitagawa, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 3257-3264.

- [27] Iesce, M. R.; Cermola, F.; Temussi, F. *Curr. Org. Chem.* **2005**, 9, 109-139.
- [28] Cox, G. S.; Bobillier, C.; Whitten, D. G. *Photochem. Photobiol.*, **1982**, 36, 401-407.
- [29] Cox, G. S.; Krieg, M.; Whitten, D. G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 6930-6937.
- [30] Cox, G. S.; Whitten, D. G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 516-521.
- [31] Cavaleiro, J. A. S.; Hewlins, M. J. E.; Jackson, A. H.; Neves, M. G. P. S. *J. Chem. Soc., Chem Commun.* **1986**, 142-144.
- [32] Cavaleiro, J. A. S.; Neves, M. G. P. S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1990**, 1937-1943.
- [33] Cavaleiro, J. A. S.; Hewlins, M. J. E.; *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6871-6874.
- [34] Jiao, L.; Courtney, B. H.; Fronczek, F. R.; Smith, K. M. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 501-504.
- [35] Kricka, L. J.; Vernon, J. M. *J. Chem. Soc. (C)* **1971**, 2667-2670 e respectivas referências.
- [36] Fryer, R. I.; Brust, B.; Earley, J. V.; Sternbach, L. H. *J. Chem. Soc. (C)* **1967**, 366-367.
- [37] (a) Bender, C. O.; Bonnett, R. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **1966**, 198-199. (b) Bender, C. O.; Bonnett, R.; Smith, R. G. *J. Chem. Soc. (C)* **1970**, 1251-1257.
- [38] Ahmed, M.; Kricka, L. J.; Vernon, J. M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1975**, 71-75.
- [39] Stobaugh, J. F.; Repta, A. J.; Sternson, L. A. *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, 4306-4309.
- [40] Duan, S.; Sinha-Mahapatra, D. K.; Herndon, J. W. *Org. Lett.*, **2008**, 10, 1541-1544.
- [41] Tomé, A. C.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2009**, 13, 408-414.

[42] De notar que, em virtude dos resultados obtidos com o fumaronitrilo e face ao enquadramento do ftalonitrilo que se esperava obter, os resultados obtidos com este dienófilo encontram-se já descritos no capítulo anterior.

[43] DeRosa, M. C.; Crutchley, R. J. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, 233-234, 351.

[44] Kobayashi, S. *Synlett* **1994**, 689-701.

[45] Liu, W.; Fronczek, F. R.; Vicente, M. G. H.; Smith, K. M., *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 7321-7324.

[46] (a) Alonso, C. M. A.; Serra, V. I. V.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Silva, A. M. S.; Paz, F. A. A.; Cavaleiro, J. A. S. *Org. Lett.* **2007**, 9, 2305-2308. (b) Graça, M.; Vicente, H.; Rezzano, I. N.; Smith, K. M. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 1365-1368.

[47] (a) Allen, F. H. *Acta Cryst. B* **2002**, 58, 380-388. (b) Allen, F. H.; Motherwell, W. D. S. *Acta Cryst. B* **2002**, 58, 407-422.

[48] Jaquinod, L.; Gros, C.; Olmstead, M. M.; Antolovich, M.; Smith, K. M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1996**, 1475-1476.

[49] Goll, J. G.; Moore, K. T.; Ghosh, A.; Therien, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 8344-8354.

[50] Takeuchi, T.; Gray, H. B.; Goddard, W. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 9730-9732.

[51] Shelnutt, J. A.; Song, X.-Z.; Ma, J.-G.; Jia, S.-L.; Jentzena W.; Medfortha, C. J. *Chem. Soc. Rev.* **1998**, 27, 31-42.

[52] Parusel, A. B. J.; Wondimagegn, T.; Ghosh, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 6371-6374.

[53] Takeuchi, T.; Gray, H. B.; Goddard, W. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 9730.

[54] Shelnutt, J. A.; Song, X.-Z.; Ma, J.-G.; Jia, S.-L.; Jentzena W.; Medfortha, C. J. *Chem. Soc. Rev.* **1998**, 27, 31.

- [55] Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. *Molecular Biology of the Cell* **2002**; Garland Science; New York, USA.
- [56] Parkinson, E. *Culture of Immortalized Cells* **1996**, Eds Freshney, R.I.; Freshney, M.G.; Wiley-Liss; New York; USA.
- [57] Queratinócito - Tipo de células que constitui 95% da epiderme. A sua principal função é constituir uma barreira de proteção com o meio externo, sendo compostas por diferentes proteínas estruturais, como a queratina; enzimas, nomeadamente proteases; lipídios e péptidos antimicrobianos. O seu método de funcionamento, aquando de um ataque externo, envolve a produção de mediadores pró-inflamatórios que atraem os leucócitos ao local de invasão.
- [58] Boukamp, P.; Petrussevska, R. T.; Breitkreutz, D.; Hornung, J.; Markham, A.; Fusenig, N. E. *J. Cell Biol.* **1988**, 106, 761-771.
- [59] Burdall, S. E.; Hanby, A. M.; Lansdown, M. R. J.; Speirs, V. *Breast Cancer Res.* **2003**, 5, 89-95.
- [60] Capes-Davis, A.; Theodosopoulos, G.; Atkin, I.; Drexler, H. G.; Kohara, A.; MacLeod, R. A. F.; Masters, J. R.; Nakamura, Y.; Reid, Y. A.; Reddel, R. R.; Freshney, R. I. *Int. J. Cancer* **2010**, 127, 1–8.
- [61] Skloot's, R. *The Immortal Life of Henrietta Lacks* **2010**; Crown Publishers; New York, USA.
- [62] *The Porphyrin Handbook – Applications: Past, Present and Future* **2000**, Eds Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R.; Academic Press, New York, USA.
- [63] Bonnett, R. *Rev. Contemp. Pharmacother.* **1999**, 10, 1.
- [64] Bonnett, R. *Chem. Soc. Rev.*, **1995**, 24, 19.

- [65] Kudinova, N. V.; Berezov, T. T. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomed. Chem.* **2010**, 4, 95–103.
- [66] Canete, M.; Villanueva, A.; Dominguez, V.; Polo, S.; Juarranz, A.; Stockert, J. C. *Int. J. Oncol.* **1998**, 13, 497-504.
- [67] Muehlmann, L.A.; Joanitti, G.A.; Silva, J.R.; Longo, J.P.F.; Azevedo, R.B. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **2011**, 44, 729-737.
- [68] Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65, 55-63.
- [69] Kessel, D. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2004**, 8, 1009-1014.
- [70] Carvalho, C. M. B.; Neves, M. G. P. M. S.; Tomé, A. C.; Paz, F. A. A.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S. *Org. Lett.*, **2011**, 13, 130-133.